Ueber

Aufnahme und Verarbeitung von fetten Oelen durch Pflanzen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der hohen

philosophischen Facultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Richard Hermann Schmidt
aus Alt-Steinhorst.

Marburg.
Universitäts-Buchdruckerei (R. Friedrich).
1891.

Referent: Professor Dr. Falkenberg.

(Separat-Abdruck aus „Flora oder allgemeine botanische Zeitung.“ 1891. Heft 3).

Bei der Keimung ölhaltiger Samen wird das in denselben aufgespeicherte Reserve-Oel auf verschiedene Weise in die wachsenden Organe geschafft. Die bekannten Arbeiten von Sachs lehren uns, dass dabei in den Wanderungsbahnen entweder Oel oder Stärke auftritt, während Zuckerarten sich nur in den Zellen der Streckungszone in nachweisbarer Menge finden. Sachs[1]) unterscheidet darnach Stärkewanderung und Oelwanderung.

In Betreff letzterer meint er, dass das Oel befähigt sei, als solches von Zelle zu Zelle zu wandern.

Detmer[2]) ist zwar der Ansicht, dass das Oel die Cellulosehaut zu durchdringen vermöge, da Hofmeister[3]) nachgewiesen, dass in Oel liegende mit Wasser imbibirte Körper ersteres aufnehmen, andererseits negirt er aber die Möglichkeit des Durchganges von Oel durch die Hyaloplasmahaut, da diese selbst für Glycose impermeabel ist. Er glaubt daher annehmen zu müssen, dass bei der Oelwanderung ähnliche Vorgänge stattfinden, wie bei der Stärkewanderung, dass nämlich das Oel während der Translokation in andere Körper übergehe, welche im Stande sind, Zellhaut und Hyaloplasma zu passiren. — Als solche Körper, welche in den Zellen wieder zu Oel regenerirt würden, spricht Detmer (l. c.) den Kohlehydraten ähnliche Oxydationsprodukte der Oele an, da bekannt ist, dass die Oele bei ihrer Bildung aus Kohlehydraten hervorgehen.

Es schien nun nicht unmöglich, in der Frage der Oelwanderung einen Schritt weiter zu kommen, wenn es gelänge, eine Aufnahme von Fetten von aussen her in Pflanzen zu erzielen.

Versuche mit Schimmelpilzen.

Es lag nahe, für derartige Versuche zunächst das Verhalten von Schimmelpilzen zu beobachten, wenn man dieselben unter Zusatz der nötigen anorganischen Stoffe mit fetten Oelen als einziger Kohlenstoffquelle zu ernähren versuchte.

Das nicht gerade seltene Vorkommen von Schimmelbildungen auf Fetten beweist noch nicht ohne weiteres die Fähigkeit der Schimmelpilze, sich von Fetten ernähren zu können, wenn ihnen dieselben als einzige

1) Sachs, Pringsheim's Jahrb. 1863. pg. 183 ff.
2) Detmer, Keimungsphysiologie 1880. pg. 371.
3) Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle 1867. pg. 226.

organische Nahrung geboten werden. Die Rohfette, besonders diejenigen animalischen Ursprungs, auf denen Schimmelbildungen beobachtet sind, enthalten stets mehr oder weniger andere Bestandtheile, besonders Eiweisskörper, worauf schon Yssel de Schepper und Geitel[1]) hingewiesen haben. Man kann sich leicht davon überzeugen, wenn man ein solches Fett mit metallischem Natrium bis zur Verkohlung erhitzt, den Rückstand glüht und dann in heissem Wasser auflöst. Erwärmt man das Filtrat mit Ferrosulfat, Ferrichlorid und Natronlauge, so tritt nach dem Uebersättigen mit Salzsäure ein Niederschlag von Berliner Blau auf, als Beweis, dass das Oel einen stickstoffhaltigen Körper enthielt.

Es könnte nun wohl sein, dass in den Fällen, in welchen Schimmelbildungen auf Fetten beobachtet wurden, gerade diese fremden Beimengungen es waren, welche den Pilzen als Nahrung dienten, während die Fettsäureglyceride zurückblieben. Es kam daher darauf an, zu ermitteln, ob die Glyceride selbst ein Nährmaterial abgeben, d. h. den Pilzen als einzige Kohlenstoffquelle dienen können. Ferner musste versucht werden, ob in diesem Falle das Fett als solches von den Pilzen aufgenommen wird, oder ob erst nach weitergehender Zersetzung des Fettes die aus ihm entstehenden Produkte in die Pilzzellen eindringen.

Zur Lösung der ersten Frage wurden Culturen in Erlenmeyerschen Kölbchen von 400 ccm Inhalt angesetzt. Die nöthigen anorganischen Nährsalze lieferten in allen Fällen je 100 ccm einer Nährlösung bestehend aus 0,25 gr Kaliumnitrat, 0,25 gr Magnesiumsulfat, 1,0 gr Calciumnitrat, 0,25 gr Kaliummonophosphat und 0,50 gr Ammoniumnitrat auf 1 Liter destillirten Wassers. Diese Lösung mag in folgendem stets als »anorganische Nährlösung« bezeichnet werden.

Je 100 ccm derselben wurden nun für die erste Versuchsreihe mit 3 gr Glycerin, für die zweite mit 3 gr Traubenzucker, für die dritte mit 1 gr Mandelöl und für die vierte mit 1 gr chemisch reiner Oelsäure versetzt, und dann durch 10 Minuten langes Kochen sterilisirt. Wie die Erfahrung bewies, genügte dies Verfahren in allen Fällen, die Wirkung von Bakterien auszuschliessen. Es trat nicht ein einziges Mal bei den zahlreichen Versuchen Trübung der Nährlösung ein, noch liessen sich Bakterien in derselben mikroskopisch nachweisen. Ebenso blieb eine bei 38,5° im Brütofen gehaltene Probe 14 Tage lang steril. Diese leichte Sterilisirbarkeit wurde, wie bekannt, hauptsächlich durch die stets saure Reaktion der Nährlösung bedingt.

Die zu den Versuchen verwandte Oelsäure war chemisch rein, und gab die oben erwähnte Reaktion auf stickstoffhaltige Körper nicht. Sie sowohl, wie das Oel, welche sich beide anfangs zu einer dünnen continuirlichen Schicht auf der wässrigen Flüssigkeit ausbreiteten, bildeten

1) Dingler's Polytechn. Journal 1882. 245. pg. 295.

nach dem Sterilisiren zahlreiche mehr oder weniger grosse Tropfen, welche in der Ruhe nicht zusammenliefen. Es war dies insofern von Bedeutung, als eine continuirliche Oelschicht den Pilzsporen den Sauerstoff zum guten Theil abgeschnitten und dadurch ihre Entwickelung verhindert haben würde. Aus demselben Grunde hatten die Culturen der beiden letzten Versuchsreihen auch nur je 1 gr Fett erhalten.

Auf die so hergestellten Nährmedien wurden nach dem Erkalten Sporen verschiedener Schimmelpilze ausgesäet. Es geschah dies, wie üblich, mittelst eines ausgeglühten Platindrahtes unter vorsichtiger Lüftung des Wattepfropfens, um möglichst Reinculturen zu erzielen. Letzteres gelang auch fast durchgehends. Zur Aussaat gelangten die Sporen verschiedener *Aspergillus-* und *Penicillium*-Arten, sowie diejenigen von *Mucor racemosus* und von *Phycomyces nitens*. Die einzelnen Arten zeigten in ihrer Entwickelung nur geringe Abweichungen von einander. Ich werde daher nur die mit *Aspergillus niger* erhaltenen Resultate mittheilen, da dieser Pilz ein relativ günstiges Wachsthum zeigte und auch die meisten folgenden Versuche mit ihm angestellt wurden. Die Culturen wurden im Dezember 1889 angesetzt und verblieben bei 20° C im zerstreuten Tageslicht. Es trat nun ein:

In der Versuchsreihe mit:	Makroskopisch sichtbare Keimung nach Tagen.	Erste Bildung von Conidien nach Tagen.	Starke Fructification nach Tagen.
Glycerin . .	4	9	—
Traubenzucker	2	5	6
Mandelöl . .	3	5	7
Oelsäure . .	3	6	7

Bei der makroskopisch sichtbaren Keimung erschien ein matter Anflug auf der Oberfläche der Flüssigkeit oder am Rande der Fetttropfen. In den Glycerinculturen trat nur ein sehr schlechtes Wachsthum ein. Nach 9 Tagen hatte sich auf der Flüssigkeit eine sehr dünne Haut gebildet, welche nur äusserst schwach fructifizierte. Während der Pilz in den übrigen Culturen die bekannten kräftigen, an der Spitze mit zahlreichen, büschelförmig angeordneten Basidien besetzten Conidienträger bildete, so waren die letzteren in den Glycerin-Culturen nur sehr kurz und dünn und schnürten an ihrer Spitze nur wenige Sporen ab, so dass letztere dem blossen Auge nur als schwacher schwarzer Anflug auf der dünnen Pilzhaut erschienen. Selbst in mehrere Wochen alten Culturen trat weder eine stärkere Entwickelung des Mycelgewebes, noch eine Bildung normaler Conidienträger ein. An dieser schlechten Entwickelung der Pilze trug aber nicht etwa eine schlechte Beschaffenheit des Glycerins die Schuld, denn dasselbe war chemisch rein, ausserdem gaben mehrere, aus verschiedenen Quellen bezogene Glycerinsorten dasselbe Resultat.

Ferner fand in den Glycerin-Culturen nach Zusatz von 0,5 gr Ammontartrat eine kräftige Entwickelung statt, welche derjenigen in den Traubenzucker-Culturen nur um ein geringes nachstand.

Um eine sichere Controle zu haben, dass die verwandte anorganische Nährlösung keine organischen Verunreinigungen enthielt, wurden Pilzsporen ebenfalls in dieselbe ausgesäet; es trat jedoch keine, mit blossem Auge sichtbare Entwickelung ein. Die Sporen trieben zwar theilweise einen kurzen Keimschlauch, gingen jedoch bald darauf zu Grunde.

Diese Versuche zeigen also unzweifelhaft, dass Schimmelpilze auf Fetten gut gedeihen und zwar bilden sowohl Neutral-Fette als auch freie Oelsäure ein verhältnissmässig gutes Nährmedium. Es ist besonders zu beachten und für die folgenden Versuche von Wichtigkeit, dass die Pilze auf der freien Oelsäure nicht nur schneller, sondern auch unvergleichlich üppiger wachsen, wie auf Glycerin. Andererseits tritt auf Neutralfett eine, wenn auch nur wenig, so doch deutlich bemerkbar schnellere Entwickelung ein, wie auf der freien Fettsäure. Es könnte letzteres allerdings auf einen geringen Gehalt des Fettes an Verunreinigungen zurückgeführt werden, doch war das verwandte Oel wiederholt mit heissem Wasser gewaschen und gab keine Reaktion auf stickstoffhaltige Körper.

Da die Impermeabilität wasserdurchtränkter thierischer Häute für Fette bekannt ist, so fragt es sich, ob die Pilze im Stande sind, die Neutralfette, ohne dass dieselben eine Veränderung erfahren, in die Zellen aufzunehmen. Im Falle dies nicht zutrifft, wären für die Aufnahme des Fettes mehrere Möglichkeiten ins Auge zu fassen. Am nächsten liegt natürlich, dass die Pilze, vielleicht durch ausgeschiedene Fermente, eine Spaltung der Fette hervorrufen. Bei einer solchen Spaltung unter Bildung wasserlöslicher Produkte ist es nun zwar nicht nothwendig, dass dieselben sich in der wässrigen Nährlösung nachweisen lassen, da die Aufnahme in dem Maasse vor sich gehen kann, als die Spaltungsprodukte auftreten. Ein Nachweis derselben würde aber dann möglich sein, wenn eines der entstehenden Produkte nicht oder langsamer von den Pilzen aufgenommen würde, und dadurch in die wässrige Nährlösung hinein diffundiren könnte.

Eine andere zu beachtende Möglichkeit der Aufnahme wäre eine theilweise Verseifung des Fettes, vielleicht unter gleichzeitiger Emulgirung eines anderen Theiles desselben vermittelst dieser Seife, wie wir einen solchen Vorgang für die Resorption der Fette im thierischen Organismus kennen. Doch auch hier müsste der Verseifung eine theilweise Spaltung der Neutralfette in Glycerin und freie Fettsäuren vorhergehen, da nur die letzteren Seifen bilden.

Eine Spaltung der Fette in freie Säuren und Glycerin ist schon früher unter verschiedenen Bedingungen nachgewiesen worden. Müntz[1]) fand

1) Annales de chimie et de physique 1871. sér. IV. t. XXII. pag. 372.

dieselbe bei der Keimung ölhaltiger Samen, wobei es ihm jedoch nicht gelang, ein Auftreten von Glycerin nachzuweisen. Ferner constatirte Boussingault[1]) das Auftreten freier Fettsäuren bei der Fäulniss von fetthaltigen Körnern und Früchten, sowie Pelouze[2]), der zerquetschte Samen in geschlossenen Gefässen aufbewahrte, wobei, vermuthlich unter Bakterienwirkung, die vorhandenen Neutralfette sogar vollkommen zersetzt wurden.

Wie erwähnt, konnte Müntz bei der Keimung ölhaltiger Samen im wässrigen Auszuge der Keimlinge kein Glycerin nachweisen. Da nun aber, wie oben gezeigt, Glycerin für die Schimmelpilze im Vergleich zur freien Fettsäure ein ungleich ungünstigeres Nährmaterial bildet, so war die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass im Falle eintretender Spaltung die günstigere Fettsäure zuerst von den Pilzen verbraucht und daher eine Ansammlung von Glycerin in der wässrigen Nährlösung stattfinden könnte, welche den Nachweis desselben ermöglichte.

Es wurden nun zahlreiche neue Culturen mit Mandelöl in Erlenmeyer'schen Kölbchen von 500 ccm Inhalt angesetzt, welche je 100 ccm anorganischer Nährlösung und eine gewogene Menge Mandelöl erhielten. Das Oel war zur möglichsten Entfernung fremder Beimischungen mehrmals mit heissem Wasser gewaschen und dann bei 105° getrocknet. — Die Culturen wurden, um Bakterien-Wirkung auszuschliessen, wie oben beschrieben, durch 10 Minuten langes Kochen sterilisirt und nach dem Erkalten Sporen aus einer Reincultur von *Aspergillus niger* in dieselben ausgesäet, worauf sie im zerstreuten Tageslichte bei 20° C zur Entwickelung hingestellt wurden. Ungefähr 25 Culturen dienten nach 30 Tagen, während welcher eine überaus üppige Entwickelung eingetreten war, zur Untersuchung der wässrigen Lösung. Die Pilzmasse wurde abfiltrirt, der Rest des Oeles, welcher durch das Filter gegangen war, mittelst Abheben im Scheidetrichter entfernt und die so erhaltene klare, fast farblose Flüssigkeit auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen eingedampft. Ein Theil desselben wurde mittelst Fehling'scher Lösung auf reducirende Stoffe geprüft, jedoch ohne Erfolg. Ebenso gab ein anderer Theil, welcher längere Zeit unter Ersatz des verdampfenden Wassers mit verdünnter Salzsäure gekocht war, mit Fehling'scher Lösung keine Reaktion. Der Rest der eingedampften Nährlösung wurde zur Trockene gebracht, und die zurückbleibende Salzmasse mit Alkohol-Aether ausgezogen und der Auszug verdunstet. Es hinterblieb ein fast unwägbarer, körnig amorpher, schwach gelblicher Rückstand, welcher aber völlig trocken war und mit Kaliumbisulfat erhitzt keinen Geruch nach Akrolein gab. Letzterer hätte bei Gegenwart von Glycerin auftreten müssen, auch wäre der Rückstand

1) Économie rurale I. pg. 300 u. 307.
2) Annales de chimie et de physique sér. III. t. XLV. pg. 319.

in dem Falle nicht trocken gewesen. Durch diese Versuche ist also erwiesen, dass in der wässrigen Nährlösung eine Anhäufung von Glycerin und Kohlehydraten nicht stattfindet. Auf andere organische Bestandtheile konnte keine Rücksicht genommen werden, da solche höchstens in minimalen Spuren in der beim Verdampfen der Nährlösung zurückbleibenden Salzmasse vorhanden waren. — Der Rest der angesetzten Culturen diente daher zur quantitativen Bestimmung der in verschiedenen Perioden in denselben vorhandenen Mengen freier Säure.

Es war nicht nöthig, zu diesen Versuchen chemisch reines Triolein zu verwenden. Das verwandte Mandelöl, welches ja fast nur aus Triolein besteht, enthielt, nachdem es mit heissem Wasser gewaschen war, nur eine geringe Menge von Glyceriden der Palmitinsäure und Stearinsäure. Sollte das Oel noch andere fremde Bestandtheile enthalten haben, so konnten diese, falls sie ein günstigeres Nährmedium als das Oel bildeten, nur die Zersetzung des letzteren um eine geringe Zeit verschieben. Dies trat jedoch nicht ein, wie sich aus der sofortigen Vermehrung der freien Säure in den Culturen ergiebt. Bleiben etwaige Verunreinigungen dagegen im Oel zurück, so werden sie durch die aus der Pilzmasse kommenden Verunreinigungen verdeckt und sind in der, für diese anzubringenden Correctur mit einbegriffen. — Die geringe Quantität Tripalmitin und Tristearin, welche das Mandelöl enthält, bleibt, wie es die später anzuführenden Versuche mit Palmitinsäure wahrscheinlich machen, bei dem Verbrauch des Oeles bis zuletzt zurück und kann dann bei der Bestimmung der freien Säuren allerdings Differenzen hervorrufen. Während zur Neutralisation von 1,0 gr Oelsäure 45,20 ccm der unten zu beschreibenden Barytlösung erforderlich waren, genügten hierzu für 1,0 gr Palmitinsäure schon 4,10 ccm derselben Lösung. Baryum bildet mit den Fettsäuren Salze verschiedener Basicität, von denen die niedriger-moleculären durch Wasser in Barythydrat und höher moleculare Salze zersetzt werden, und daher alkalisch reagiren. Diese Zersetzung der fettsauren Baryumsalze durch Wasser tritt nun bei der Palmitinsäure und Stearinsäure viel leichter ein, als bei der Oelsäure, und dadurch erklärt es sich, dass eine alkalische Reaktion bei ersteren schon nach der Bildung eines viel stärker-sauren Salzes auftritt. Das Resultat wird daher durch einen Gehalt der Säure an Palmitinsäure und Stearinsäure in der Art beeinflusst, dass die wirklich vorhandene Menge freier Säure um ein geringes grösser ist, als man durch Berechnung der verbrauchten Menge Barytlösung auf Oelsäure findet. Immerhin ist der Gehalt des Mandelöles an Tripalmitin und Tristearin so gering, dass die dadurch hervorgerufene Differenz die Grenze der Versuchsfehler nicht überschreitet, wie dies auch aus den weiter unten angeführten Analysen hervorgeht.

Das Fett wurde aus den Pilzculturen durch mehrmaliges Ausschütteln mit Aether wiedergewonnen, der Aether dann abdestillirt und der ver-

bleibende Rückstand bei 105° getrocknet und gewogen. Wiederholte Versuche ergaben, dass diese Methode hinreichend genaue Resultate lieferte. Auf Traubenzucker gezüchtete Culturen von *Aspergillus niger* wurden mit Oel versetzt und letzteres dann mit Aether ausgeschüttelt. Der dabei erlittene Verlust betrug im Mittel 0,10—0,15%, im höchsten Falle 0,40%.

Die Bestimmung der freien Fettsäuren geschah nach der von Stohmann [1]) angegebenen Methode durch Titriren ihrer alkoholischen Lösung mit Barytwasser, wobei Rosolsäure als Indicator diente. Zur Herstellung der Barytlösung wurden 7,0 gr krystallisiertes Baryumhydrat ($Ba(OH)_2 + 8\,H_2O$) im Liter gelöst. Dieselbe wurde dann auf chemisch reine krystallisirte Oxalsäure eingestellt, wobei in mehreren übereinstimmenden Versuchen 2,16 ccm derselben 1,00 ccm $^1/_{10}$ normal Oxalsäure entsprachen.

Da sich bei der Neutralisation der Fettsäuren keine bestimmt characterisirten Salze bilden, so hat die quantitative Bestimmung ersterer ihre Schwierigkeiten. In der chemischen Praxis wird daher das Resultat nicht direkt auf irgend eine Fettsäure berechnet, sondern ihr Säurewerth auf Kaliumhydrat bezogen angegeben. Eine solche Berechnung wäre nun für vorliegende Zwecke wenig geeignet gewesen, da die Resultate dadurch nicht übersichtlich genug klargelegt worden wären. Ich musste also versuchen, die Oelsäure direkt aus der verbrauchten Menge Barytlösung zu berechnen. Auf absolute Genauigkeit können die erhaltenen Zahlen in Folge dessen natürlich keinen Anspruch machen, doch dürfte der Fehler in keinem Falle 1,0% übersteigen.

Bei der Einstellung der Barytlösung auf käufliche reine Oelsäure gebrauchte 1,0 gr der letzteren 1) 44,80, 2) 45,20, 3) 45,50, 4) 45,30 ccm, also im Mittel 45,20 ccm der Barytlösung. Für den Fall der Bildung eines neutralen Salzes $Ba(C_{18}H_{33}O_2)_2$ hätten dagegen 1,0 gr Oelsäure 76,60 ccm Barytlösung gebrauchen müssen. Die thatsächlich gebrauchte Quantität kommt dem Verhältnis nahe, das der Bildung einer Verbindung $Ba(C_{18}H_{33}O_2)_2(C_{18}H_{34}O_2)_2$ entspricht, und welche 51,10 ccm Barytlösung verlangen würde. Wenn auch eine Oelsäure an der Luft in kurzer Zeit Sauerstoff absorbirt, so kann doch diese Differenz nicht einer Veränderung der Oelsäure zur Last gelegt werden. Zum Beweise dient folgender Versuch. Gewaschenes und getrocknetes Mandelöl wurde zur Entfernung der freien Säure wiederholt mit Alkohol ausgeschüttelt und dann bei 100° getrocknet. Von demselben wurden 1,0010 gr mit Kalilauge verseift, die Seife mit Salzsäure zersetzt und die freie Säure mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde solange mit Wasser gewaschen, bis dies nicht mehr mit Silbernitrat auf Salzsäure reagirte,

1) Journal f. praktische Chemie 1881. N. F. XXIV. pg. 506.

dann der Aether abdestillirt und der Rückstand bei 105° getrocknet. Er wog 0,955 gr und gebrauchte 42,70 ccm Barytlösung zur Neutralisation. Da nun 1,0 gr Oelsäure 45,20 ccm Barytlösung erforderten, so entspricht 1,00 ccm der letzteren 0,0221 gr Oelsäure, also 42,70 ccm = 0,9473 gr. Diese Differenz von 0,0113 gr wird, wie oben erörtert, durch einen Gehalt des Oeles an Palmitinsäure und Stearinsäure bedingt. Es berechnet sich hieraus die Fehlergrenze für die Bestimmung der Oelsäure in Mandelöl unter Vernachlässigung des Gehaltes an anderen Säuren zu 1,18%, was einen Gehalt der Säure von 1,19% Palmitinsäure entspricht. Aus diesem Resultat geht aber auch hervor, dass das vorhin besprochene theoretische Verhältniss der Oelsäure zur Barytlösung in Wirklichkeit nicht zutrifft. Würde nämlich 1,0 gr Oelsäure 51,1 ccm Barytlösung entsprechen, so müsste die Säure des Mandelöles 13,59% Palmitinsäure enthalten. Da aber bekannt ist, dass Mandelöl fast reines Trolein ist, also nur eine geringe Menge anderer Säuren enthält, so ergibt sich aus dem vorstehenden Versuche eine hinreichende Genauigkeit der Bestimmungsmethode.

Im Folgenden wird daher von den fremden Beimengungen des Mandelöles abgesehen und die erhaltenen Zahlen, ohne grosse Fehler auf Triolein berechnet werden können. — Es entspricht demnach 1 ccm Barytlösung 0,0221 gr Oelsäure, ferner 1,0 gr Mandelöl 0,957 gr Oelsäure und 0,104 gr Glycerin.

Um dem Einwande zu begegnen, dass das Oel, welches sich allerdings an feuchter Luft mit der Zeit zersetzt, dies auch in den Pilzculturen durch seine stete Berührung mit der sauer reagirenden Nährlösung von selbst gethan haben könne, wurden mehrere Kölbchen, welche je 100 ccm anorganischer Nährlösung und eine gewogene Menge Oel enthielten und sterilisirt waren, denselben Bedingungen, wie die Pilzculturen ausgesetzt. Von Zeit zu Zeit wurde das Oel eines Kölbchens durch Ausschütteln mit Aether wiedergewonnen und sein Gehalt an freier Säure bestimmt. Die Resultate waren folgende:

1) 2,087 gr des verwandten Oeles gebrauchten 1,90 ccm Barytlösung, welche 0,04199 gr = 2,02% freier Oelsäure entsprechen.

2) 0,753 gr Oel gaben nach 10 Minuten langem Kochen mit der anorganischen Nährlösung und nach dem Erkalten, durch Ausschütteln mit Aether 0,753 gr Oel, welche 0,70 ccm Barytlösung zur Neutralisation erforderten, also 0,0154 gr = 2,00% freier Säure enthielten.

3) 0,675 gr Oel, wie oben behandelt, liessen nach 5 Tagen 0,672 gr Oel wieder gewinnen, welche durch 0,70 cm Barytlösung neutralisirt wurden, entsprechend einem Gehalt von 0,01547 gr = 2,38% freier Oelsäure.

4) 1,916 gr Oel ergaben nach 20 Tagen durch Ausschütteln 1,903 gr, welche 2,90 ccm Barytlösung gebrauchten, also 0,06409 gr = 3,30% freie Oelsäure enthielten.

5) 1,039 gr Oel ergaben nach 45 Tagen 1,034 gr Oel, neutralisirt durch 3,10 ccm Barytlösung, entsprechend 0,06851 gr = 6,6% freier Säure.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, dass das angewandte Oel 2,0% freier Säure enthielt, deren Menge durch die Sterilisation und die angewandte Methode der Wiedergewinnung nicht vermehrt wurde. Es tritt also weder durch das Erhitzen mit der anorganischen Nährlösung, noch durch das Ausschütteln mit Aether und Trocknen des Destillations-Rückstandes bei 105° eine weitere merkliche Spaltung des Oeles ein. Bei längerer Berührung desselben mit der sauer reagierenden Nährlösung unter freiem Luftzutritt findet dagegen eine langsame Dissociation statt, die aber in 45 Tagen nur eine Zunahme der freien Säure bis zu 6,6% des angewandten Oeles bewirkte.

Da, wie bekannt, viele Pilzzellen im normalen Zustande Oeltröpfchen enthalten, so lag die Möglichkeit nahe, dass durch dieselben die Resultate beeinflusst werden könnten. Auf mikroskopischem Wege waren allerdings bei *Aspergillus niger* keine Oeltröpfchen nachweisbar; es konnte also Oel nur in höchst geringen Spuren vorhanden sein; immerhin konnten aber auch andere in Aether lösliche Bestandtheile die Versuche stören. Es wurden daher Glycerinculturen des Pilzes hergestellt, die auf 100 ccm anorganischer Nährlösung 3,0 gr Glycerin und 0,20 gr Ammontartrat enthielten, und eine kräftige Entwickelung zeigten. Von diesen wurden nun in derselben Weise, wie bei den Oel-Culturen Aether-Ausschüttelungen hergestellt und die Destillationsrückstände der letzteren weiter untersucht. Es konnten allerdings zum Vergleiche mit den Oel-Culturen keine gleichalterigen Glycerin-Culturen dienen; denn während in ersteren die Pilzvegetation stets auf die, auf der Oberfläche der Nährlösung schwimmenden Oeltropfen beschränkt blieb, deren Masse nicht so gross sein darf, dass die ganze Oberfläche davon bedeckt wird, um der Luft freien Zutritt zu gewähren, so bildet die Pilzvegetation auf der Glycerin-Nährlösung eine gleichmässige Decke. Natürlich ist dadurch auch die Fructification eine viel reichlichere, und da die ätherlöslichen Stoffe hauptsächlich aus der Sporenmasse stammten, so ist man bei der Auswahl gleich-entwickelter Culturen lediglich auf das Augenmaass beschränkt. Der dadurch bedingte Fehler ist aber bei der geringen Grösse der in Rechnung zu ziehenden Correcturen ein verschwindend kleiner. Vor der Sporenbildung enthält die Pilzmasse nur eine unwägbar kleine Menge in Aether löslicher Substanz; die Sporen gaben dagegen an Aether einen Körper ab, dessen gelbe ätherische Lösung stark grün fluorescirte. Die Gewichtsmenge des Aetherextractes betrug bei Culturen, welche entsprachen:

einer Cultur auf Oel von 7 Tagen = 0,004 gr
„ „ „ „ „ 10 „ = 0,010 „
„ „ „ „ „ 12 „ = 0,015 „
„ „ „ „ „ 30 „ = 0,020 „
„ „ „ „ „ 45 „ = 0,030 „

In keinem Falle zeigte derselbe jedoch eine saure Reaction. Diese Werthe sind also von der, durch Ausschütteln der Oelculturen mit Aether enthaltenen Quantitäten Rohfett in Abzug zu bringen, um die wirklich vorhandene Menge Oel zu finden.

Um die Richtigkeit dieser Correctur zu prüfen wurde noch folgender Versuch angestellt. Eine Cultur, welche 1,501 gr Oel erhalten hatte, lieferte nach 45 Tagen 0,959 gr Aetherextract, welcher durch 41,5 ccm Barytlösung neutralisirt wurde, also 0,91715 gr freie Oelsäure enthielt. Die ganze Masse wurde dann durch Erhitzen mit überschüssiger Kalilauge verseift und nach Zersetzung der Seife mit Salzsäure, die freie Oelsäure mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung derselben wurde mit Wasser gewaschen, bis dies keine Salzsäure mehr aufnahm und dann der Aether abdestilirt. Der Rückstand betrug 0,928 gr, welche 42,00 ccm Barytlösung zur Neutralisation erforderten. Der Mehrverbrauch von 0,50 ccm Barytlösung entspricht 0,0117 gr Trioleïn, so dass das bei der ersten Wiedergewinnung erhaltene Rohfett aus 0,91715 gr Oelsäure, 0,0117 gr Trioleïn und 0,03025 gr Verunreinigungen bestand. Dabei muss erwähnt werden, dass diese letztere Quantität noch in dem Maasse geringer ist, als das Oel Palmitinsäure und Stearinsäure enthält, die Correcturen folglich als Maximalwerthe zu betrachten sind.

Die Resultate, welche mit den Culturen auf Mandelöl erzielt wurden waren nun folgende:

I. Angewandtes Oel = 1,080 gr. Wiedererhalten nach 2 Tagen 1,079 gr, welche 1,30 ccm Berytlösung erforderten, also 0,02873 gr freie Säure enthielten. Die Sporen zeigten unter dem Mikroskop beginnende Keimung. Mit blossem Auge war in den Culturen noch keine Entwickelung sichtbar.

II. Nach 4 Tagen wurden von 1,025 gr Oel wiedergewonnen 1,016 gr, welche 7,30 ccm Barytlösung zur Neutralisation gebrauchten, entsprechend 0,1613 gr freier Säure. In dieser Cultur war der Beginn der Entwickelung als schwacher Anflug am Rande der Oeltropfen sichtbar.

III. Von 1,161 gr verwandten Oeles wurden nach 5 Tagen 1,126 gr wiedererhalten und zur Neutralisation 12,50 ccm Barytlösung gebraucht, gleich einem Gehalt von 0,27625 gr freier Oelsäure.

IV. Nach 7 Tagen, wo sich die ersten Anzeichen von Sporenbildung bemerkbar machten, wurde von 0,913 gr Oel 0,640 gr wiedererhalten. Als Correctur für Verunreinigungen, welche aus den Sporen in den Aether übergegangen waren, sind 0,004 gr in Abzug zu bringen. Die übrigbleibenden 0,636 gr Fett wurden durch 17,80 ccm Barytlösung neutralisirt, enthielten also 0,39338 gr freie Oelsäure.

V. Angewandtes Oel = 0,370 gr Wiedergewonnen nach 10 Tagen 0,216 gr, wovon für Verunreinigungen 0,010 gr in Abzug kommen. Als

Rest bleibt 0,206 gr Oel, welches 5,30 ccm Barytlösung gebrauchte, entsprechend 0,11713 gr freier Oelsäure.

VI. Aus einer gleichfalls 10 Tage alten Cultur wurden von 0,804 gr Oel 0,428 gr wiedererhalten, von denen wegen stärkerer Sporenentwickelung 0,015 gr als Verunreinigung zu betrachten sind. Der Rest von 0,413 gr enthielt 0,36686 gr freier Säure gleich 16,60 ccm Barytlösung.

VII. Nach 12 Tagen: Angewandtes Oel = 0,804 gr, wiedererhalten 0,418—0,015 = 0,403 gr. Säurewerth = 17,80 ccm Barytlösung entsprechend 0,39338 gr freier Oelsäure.

VIII. Nach 15 Tagen wurden von 2,434 gr Oel wiedergewonnen 2,052—0,015 = 2,037 gr, welche 47,5 ccm Barytlösung gebrauchten, also 1,04975 gr freier Säure enthielten.

IX. Aus einer anderen, ebenfalls 15 Tage alter Cultur gaben 0,776 gr verwandtes Oel 0,363 – 0,015 = 0,348 gr wieder, neutralisirt durch 15,50 ccm Barytlösung gleich 0,34255 gr freier Säure.

X. Nach 20 Tagen: Angewandt 0,709 gr Oel; wiedergewonnen 0,339—0,015 = 0,324 gr mit 0,27625 gr freier Oelsäure = 12,50 ccm Barytlösung.

XI. Nach 30 Tagen wurden von 0,540 gr Oel 0,157—0,020 gr = 0,137 gr Oel zurückerhalten, welche durch 5,8 ccm Barytlösung neutralisirt wurden, also 0,12818 gr freier Oelsäure enthielten.

XII. Nach 35 Tagen gaben 0,518 gr Oel: 0,289—0,020 = 0,269 gr, welche 12,20 ccm Barytlösung gebrauchten, entsprechend 0,26962 gr freier Säure.

XIII. Nach 40 Tagen: Angewandtes Oel = 0,452 gr; wiedergewonnen 0,133—0,020 = 0,113 gr mit 0,09282 gr freier Säure gleich 4,20 ccm Barytlösung.

XIV. Nach 45 Tagen waren von 1,501 gr verwandten Oeles noch übrig 0,959—0,030 = 0,929 gr, welche 41,5 ccm Barytlösung zur Neutralisation erforderten, also 0,91715 gr feier Oelsäure enthielten.

XV. Aus einer anderen, ebenfalls 45 Tage alten Cultur, welche 0,294 gr Oel erhalten, wurden gewonnen 0,034—0,025 = 0,009 gr Oel, welche 0,40 ccm Barytlösung gebrauchten, entsprechend 0,0884 gr freier Oelsäure.

Die nachstehende Tabelle wird eine bessere Uebersicht über die, sich aus den Versuchen ergebenden Resultate gewähren. Zur Erläuterung derselben mögen noch folgende Bemerkungen dienen.

Wie ersichtlich, giebt Kolonne 2 die zu den einzelnen Culturen verwandten Mengen, und 3 – 8 die Qualität des Oeles. In gleicher Weise gelten 9 und 10—15 für das wiedergewonnene Fett. Die freie Oelsäure war durch Titrieren gefunden, die Zahlen für die gebundene Oelsäure des Neutralfettes und für das Glycerin durch Rechnung erhalten. Da bei der Spaltung des Neutralfettes Wasseraufnahme stattfindet, so kann die

Nr. der Analyse.	Alter der Culturen in Tagen.	Quantität des angewandten Oeles.	Qualität des angewandten Oeles.						Quantität des wiedergewonnenen Oeles.	Qualität des wiedergewonnenen Oeles.						Verbrauch an Substanz.		Verbrauch an Oelsäure.		Verbrauch an Glycerin.	
			Freie Oelsäure.		Gebundene Oelsäure.		Glycerin.			Freie Oelsäure.		Gebundene Oelsäure.		Glycerin.							
		gr	gr	%	gr	%	gr	%	gr	gr	%	gr	%	gr	%	gr	%	gr	%	gr	%
I.	2	1,080	0,0216	2,0	1,013	93,8	0,109	10,1	1,079	0,029	2,7	1,005	93,1	0,109	10,1	0,001	0,10	0,001	0,10	—	—
II.	4	1,025	0,0205	2,0	0,961	93,8	0,104	10,1	1,016	0,161	15,8	0,818	80,5	0,089	8,75	0,009	0,90	0,0025	0,25	0,015	14,5
III.	5	1,161	0,023	2,0	1,089	93,8	0,118	10,1	1,126	0,276	24,5	0,813	72,3	0,088	7,9	0,035	3,01	0,023	2,1	0,030	25,4
IV.	7	0,913	0,018	2,0	0,857	93,8	0,093	10,1	0,636	0,393	61,8	0,233	36,6	0,025	3,98	0,277	30,3	0,249	29,5	0,068	70,0
V.	10	0,370	0,007	2,0	0,347	93,8	0,038	10,1	0,206	0,117	56,8	0,085	41,3	0,009	4,3	0,164	44,3	0,152	42,9	0,029	76,3
VI.	10	0,804	0,016	2,0	0,754	93,8	0,082	10,1	0,413	0,367	88,7	0,054	13,1	0,006	1,4	0,391	48,6	0,349	45,3	0,076	92,7
VII.	12	0,804	0,016	2,0	0,754	93,8	0,082	10,1	0,403	0,393	97,6	0,0096	2,4	0,001	0,26	0,401	49,9	0,367	47,7	0,081	98,8
VIII	15	2,434	0,049	2,0	2,282	93,8	0,248	10,1	2,037	1,050	51,0	0,945	46,4	0,103	5,0	0,397	16,3	0,336	14,4	0,145	58,5
IX.	15	0,776	0,015	2,0	0,728	93,8	0,079	10,1	0,348	0,343	98,0	0,005	1,4	0,0005	0,15	0,428	55,2	0,395	53,2	0,785	99,4
X.	20	0,709	0,014	2,0	0,665	93,8	0,072	10,1	0,324	0,276	85,2	0,046	14,2	0,005	1,5	0,385	54,3	0,357	53,0	0,067	93,1
XI.	30	0,540	0,011	2,0	0,506	93,8	0,055	10,1	0,137	0,128	93,4	0,009	6,3	0,001	0,7	0,403	74,6	0,370	71,6	0,054	98,2
XII.	35	0,518	0,010	2,0	0,486	93,8	0,053	10,1	0,269	0,269	100,0	—	—	—	—	0,249	48,1	0,227	45,8	0,053	100,0
XIII.	40	0,452	0,009	2,0	0,424	93,8	0,046	10,1	0,113	0,093	82,3	0,019	16,8	0,002	1,8	0,339	75,0	0,321	74,1	0,004	95,7
XIV.	45	1,501	0,030	2,0	1,408	93,8	0,153	10,1	0,929	0,917	98,7	0,0115	1,2	0,001	0,13	0,572	38,1	0,510	55,0	0,152	99,3
XV.	45	0,294	0,006	2,0	0,276	93,8	0,030	10,1	0,009	0,009	100,0	—	—	—	—	0,285	97,0	0,273	96,8	0,030	100,0
Col.-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21

Summe von freier und ungebundener Säure und von Glycerin natürlich nicht das Gemenge von freier Säure und Neutralfett ergeben. So geben z. B. in Versuch III. 1,089 gr Oelsäure und 0,118 gr Glycerin nicht 1,207 gr Neutralfett, sondern nur 1,138 gr die mit der freien Säure 0,023 gr zusammen die angewandte Menge Oel 1,161 gr bilden. Andererseits würden aber 1,138 gr Neutralfett bei der Spaltung 1,089 gr Oelsäure und 0,118 gr Glycerin liefern. Ein gleiches gilt für die Ziffern der Kolonnen 12 und 14. Die Angaben des %-Gehaltes sind für 4, 6 und 8 auf 2; für 11, 13 und 15 auf 9 berechnet, können also aus denselben Grunde zusammen nicht 100 ergeben.

Die Reihen 16—21 geben den Verbrauch an, welcher in den Culturen stattgefunden hat. Bei dem Verbrauche der Oelsäure ist sowohl die freie, wie die gebundene Säure berücksichtigt, da aus den Versuchen nicht zu entnehmen ist, ob das Neutralfett als solches verbraucht, oder wie wahrscheinlicher stets vorher gespalten wurde. — Es berechnet sich daher Kolonne 18 aus $(3 + 5) - (10 + 12)$; ebenso ist die Angabe in 17 auf die Summe von $(3 + 5)$ bezogen.

Es wurde auch hier wiederholt versucht, in den Culturen Glycerin nachzuweisen, wie dies oben erwähnt ist; aber selbst in Fällen, wie bei Versuch VIII, wo der Verlust an Glycerin 0,145 gr betrug, ist das niemals gelungen. Es unterliegt deshalb keinem Zweifel, dass das abgespaltene Glycerin thatsächlich von den Pilzen verbraucht oder weiter zersetzt worden ist, wenigstens nicht mehr als solches in der Nährlösung vorhanden war; denn eine Menge Glycerin von 0,145 gr ist in einer Flüssigkeit mit absoluter Sicherheit nachzuweisen.

Die Resultate zeigen also, dass das Oel von den Pilzen als Nahrung verbraucht wird, und zwar verschwindet sowohl das Glycerin, als auch die Fettsäure. Ersteres nimmt aber in viel schnellerem Maasse ab, als letztere, so dass diese schliesslich allein in den Culturen zurückbleibt. — Das Neutralfett wird also durch die Wirkung der Pilzzellen in Glycerin und freie Fettsäure gespalten. Davon wird nun auch das Glycerin sofort nach seiner Abspaltung von den Pilzen aufgenommen, da ein Uebertreten desselben in die wässerige Nährlösung nicht stattfindet. Diese Verhältnisse erklären sich aus folgenden Beobachtungen über das Wachsthum der Pilze in den Oel-Culturen.

Es ist in der vorstehenden Tabelle auffallend, dass nicht eine gleichmässige Zunahme der freien Fettsäuren mit dem Alter der Culturen stattfindet, dass dagegen in einigen Fällen schon ein beträchtlicher Verbrauch an Oelsäure stattgefunden, lange bevor alles Neutralfett gespalten worden war.

Wenn die Pilzsporen in die Nährlösung, an deren Oberfläche das Oel in grösseren oder kleineren Tropfen schwamm, ausgesäet wurden, so sammelten sie sich am Rande der letzteren an und fingen bald an,

zu keinem, da sie hier die für ihre Entwickelung nöthigen Bedingungen fanden, nämlich Sauerstoff, Wasser, anorganische und organische Nährstoffe. — Die Keimschläuche der Sporen legen sich von aussen an die Oeltropfen an, und indem sie sich bei ihrer weiteren Entwickelung unter einander verfilzen, schliessen sie die Oeltropfen in ein dichtes Mycelgewebe ein. Es gelingt leicht, diesen ganzen Vorgang im hängenden Tropfen direkt unter dem Mikroskop zu verfolgen. — Nachdem der Pilz nun die Oberfläche des Oeles umsponnen hat, wachsen zahlreiche Mycelfäden in die wässrige Flüssigkeit hinein, wo sie besonders von der Unterseite der Oeltropfen frei herabhängen. Sie haben hier ganz das Aussehen von Rhizoiden und können, da die Nährlösung keine organischen Baustoffe enthält, nur zur Aufnahme des Wassers und der anorganischen Salze dienen. Ihre organischen Bestandtheile müssen sie daher nothwendig von den, das Oel berührenden Theilen des Pilzgewebes zugeleitet erhalten. Genau dasselbe gilt nun in Bezug auf die anorganischen Bestandtheile für die, in das Oel hineinragenden Theile des Pilzes; denn von der äusseren Hülle aus wachsen auch zahlreiche Mycelfäden in das Innere der Oeltropfen hinein, die hier natürlich weder Wasser noch anorganische Stoffe finden. Es ist demnach also eine vollkommene Arbeitstheilung für die verschiedenen Theile des Pilzgewebes eingetreten.

Die in das Oel hineinragenden Mycelfäden sind es nun, welche die Spaltung des Fettes bewirken. Sie nehmen auch das Glycerin sofort auf, sodass die an der Peripherie des Oeltropfens befindlichen Fäden gar nicht mehr mit Neutralfett in Berührung kommen, sondern nur in die freigewordene Oelsäure tauchen. Sie werden es nun sein, welche den Verbrauch an Oelsäure bedingen.

Durch diese, hier geschilderten Wachsthumsverhältnisse erklären sich nun auch die auffallenden Verschiedenheiten und scheinbaren Unregelmässigkeiten der einzelnen Analysen. Vergleichen wir z. B. VIII und IX. Beide Culturen sind 15 Tage alt, VIII hat von 2,434 gr Oel verbraucht 0,397 gr = 16,3 %, IX. dagegen von 0,776 gr schon 0,428 gr = 55,2 %. Bei ersterer Cultur bildete das Oel grosse Tropfen auf der Nährlösung, während die 0,776 gr in No. IX durch Schütteln möglichst fein vertheilt, und da der Kolben dann vor Erschütterung geschützt wurde, auch nicht wieder zusammen gelaufen waren. Sobald sich übrigens die ersten Mycelfäden an die Oeltropfen angelegt haben, vereinigen sich diese überdies nicht mehr mit einander. Während nun bei dieser feineren Vertheilung des Oeles die Mycelfäden leicht in das Innere der Tropfen eindringen konnten, und dort die Spaltung des Oeles bewirken, so dass fast vollständige Zersetzung eingetreten war, ist dagegen in Versuch VIII in den grösseren Tropfen diese Spaltung erst bis zu 51 % vorgeschritten. Dasselbe ergiebt sich aus einem Vergleiche von XII und XIII, von denen XII eine feinere Vertheilung zeigte, sowie auch von XIV und XV.

Es muss darauf hingewiesen werden, dass die Pilze das Glycerin zuerst verbrauchen, während wir doch aus den früher erwähnten Culturen deutlich entnehmen konnten, ein wie schlechtes Nährmedium dasselbe im Vergleich mit der Oelsäure ist. Es wird dies dadurch zu erklären sein, dass Glycerin und Oelsäure in den Pilzzellen verschiedenen Zwecken dienen, da ja z. B. auch ein geringer Zusatz von Ammontartrat in Glycerinculturen eine üppige Pilzvegetation hervorruft.

In diesen Versuchen, welche sämmtlich mit Mandelöl angestellt wurden, hatte ich nur auf die Oelsäure Rücksicht genommen; die geringe Menge anderer Fettsäuren war unberücksichtigt geblieben, da die, durch dieselben hervorgerufenen Fehler gering genug waren, um ohne Nachtheil für die Resultate vernachlässigt werden zu können. — Für ihre Verarbeitung sind mehrere Möglichkeiten gegeben. Die Triglyceride konnten entweder gar nicht gespalten werden und wären wahrscheinlich bis zuletzt im übrigbleibenden Fett verblieben. Wenn dagegen Spaltung zugleich oder nach der des Trioleïn auftrat, so kann die freie Fettsäure doch im Rückstand verblieben sein, ohne von den Pilzen aufgenommen zu werden. Schliesslich ist es aber auch möglich, dass die festen Fettsäuren, zumal sie ja in der Oelsäure gelöst waren, mit dieser zugleich verarbeitet wurden. Um das Verhalten dieser festen Fette, die ja im Pflanzenreiche ebenfalls als Reservematerial vorkommen, zu studiren, besonders auch, um zu constatiren, ob sie von den Pilzen aufgenommen werden können, wenn zugleich kein Lösungsmittel vorhanden ist, wie in den Fällen, wo sie Bestandtheile flüssiger Reserve-Fette ausmachen, so wurden noch folgende Versuche mit Schweineschmalz, Wachs, Palmitinsäure und Wallrath angestellt.

Die Culturen wurden in gleicher Weise hergestellt, wie dies für die mit Mandelöl angefertigten gesagt worden ist. Das Schweinefett und Wachs wurden zur Entfernung von Verunreinigungen wiederholt mit heissem Wasser gewaschen und endlich bei 105° getrocknet. Der Wallrath wurde mehrmals aus heissem Alkohol umkystallisirt, bis der Schmelzpunkt constant bei 49° blieb.

Die Culturen mit Schweinefett gaben genau dieselben Resultate, wie die mit Mandelöl erhaltenen, weshalb ich davon Abstand nehme, die erhaltenen Zahlenwerthe anzuführen. Letztere sind ausserdem nicht so auffallend, wie dort, da einerseits das Wachsthum der Culturen ein sehr langsames war, andererseits die freien Säuren durch eine viel geringere Menge Barytlösung neutralisirt werden, wie die Oelsäure. Die ersten Anzeichen der Entwickelung traten in den Culturen mit Schweineschmalz erst nach 7 Tagen ein, während die ersten Sporen 10 Tage nach der Aussaat gebildet wurden. Das Fett besteht zum grössten Theil aus Tripalmitin und

Tristearin, und wie schon oben hervorgehoben, genügten zu Neutralisation von 1,0 Palmitinsäure schon 4,10 ccm unserer Barytlösung, eine Anzahl, welche für Stearinsäure noch geringer war. Die Versuche liessen aber keinen Zweifel darüber, dass das Fett ebenso wie Mandelöl gespalten und Glycerin wie Säuren thatsächlich von den Pilzen verbraucht wurden, und dass nicht etwa nur im Fett verbleibende Unreinigkeiten die Entwickelung hervorgerufen hatten.

Ein noch langsameres Wachsthum, wie auf Schweinefett zeigten die Pilze auf Bienen-Wachs, Palmitinsäure und Wallrath. Alle drei Körper bilden, wenn man die sterilisirte Nährlösung ruhig erkalten lässt, einen festen Kuchen auf der wässerigen Flüssigkeit. Es wurden die Kölbchen daher, um eine feinere Vertheilung zu erzielen, unter stetem Umschütteln erkalten lassen. Die Plamitinsäure, welche chemiseh rein war, und vor dem Versuch bei 105° C getrocknet worden war, zeigte in einer 30 Tage alten Cultur nur eine Abnahme von 0,06 gr oder 8,1% der angewandten Masse. Eine gleich langsame Abnahme zeigte der Wallrath. Derselbe besteht nach dem Umkrystallisiren bekanntlich aus reinem Palmitinsäure-Cetylester: $\begin{matrix} C_{15} H_{31} . CO \\ C_{15} H_{31} . CH_2 \end{matrix} > O$. Ein Auftreten freier Säure liess sich hier nicht nachweisen, selbst nicht nach drei Monaten, obgleich die Masse des Esters bedeutend abgenommen hatte. Wenn in diesem Falle überhaupt Spaltung eintritt, was doch wahrscheinlich ist, so werden jedenfalls beide Componenten. die Palmitinsäure und der Cetylalkohol gleichmässig von den Pilzen verarbeitet, da sie ja Verbindungen desselben Radikales sind und annähernd gleiche Moleculargrösse haben.

Das Wachsthum der Pilze auf diesen Fetten ist abgesehen von der langsameren und spärlicheren Entwickelung, dasselbe, wie es bei den Oelculturen beschrieben wurde. Auch hier werden die Fettstückchen in ein dichtes Mycelgewebe eingeschlossen, das sich fast an dieselben anlegt und beim Behandeln der Stücke mit Aether als leere Tasche zurückbleibt.

Die Versuche zeigen also, dass auch die festen Fette und Fettsäuren den Pilzen als einzige organische Nahrung dienen können, wenn sie auch gerade kein sehr üppiges Wachsthum derselben gestatten. — Immerhin muss aber doch die Aufnahme der festen Körper in die Zellen hinein stattfinden. Wenn dies nicht durch eine Spaltung der Fette in wasserlösliche Körper oder durch die Bildung wasserlöslicher Verbindungen der Fettsäuren geschieht, so ist doch eine durch die Mycelfäden bedingte Lösung oder Schmelzung an den Berührungsstellen durchaus nothwendig. — Organische, wasserlösliche Zersetzungsprodukte liessen sich auch hier nicht in der wässriger Nährlösung nachweisen. Auch über eine anderweitige Art der Aufnahme waren aus den Culturen auf festen Fetten keine Anhaltspunkte zu gewinnen.

Im Allgemeinen bietet die Aufnahme der Fettsäuren, abgesehen von der Löslichmachung, dieselben Schwierigkeiten, wie die der Oelsäure. — Das Fehlen organischer Spaltungsprodukte in der wässrigen Flüssigkeit kann nicht als Beweis gegen eine Spaltung der Fettsäuren in wasserlösliche Körper angesehen werden: denn dieselben konnten in dem Maasse ihrer Bildung von den Pilzzellen aufgenommen werden, oder doch nur in chemisch nicht nachweisbarer Menge in die wässrige Nährlösung hineindiffundiren.

Eine zweite Möglichkeit der Aufnahme besteht in der Bildung löslicher, seifenartiger Verbindungen mit oder ohne gleichzeitige Emulsionsbildung. Um zu entscheiden, ob vielleicht die Bildung anorganischer Seifen die Aufnahme der Fette erleichterte und dadurch eine schnellere Entwickelung der Pilze veranlasste, wurde versucht, letztere mit Seifen zu ernähren. Da die meisten Oelsäure-Salze in Wasser unlöslich sind, so konnten nur die Alkalien zu diesen Versuchen dienen. Ich schüttelte deshalb eine Lösung von Natriumphosphat mit Oelsäure. Das Natriumphosphat $Na_2 HPO_4$ setzt sich dabei in Mononatriumphosphat $Na H_2 PO_4$ und Natriumoleat $C_{18} H_{33} O_2 Na$ um. Die so hergestellte Seife wurde, nach dem Filtriren, mit geglühtem Quarzsande und etwas anorganischer Nährlösung vermischt und auf diese Masse Sporen von *Aspergillus niger* und *Phycomyces nitens* ausgesäet. Diese Culturen zeigten indessen ein langsameres Wachsthum, als andere gleichbehandelte, bei denen der Sand direkt mit freier Oelsäure und anorganischer Nährlösung gemischt war.

Ein gleiches Resultat gab eine Cultur mit Ammoniakseife, deren Substrat durch Zusammenschütteln von wässrigem Ammoniak mit der Oelsäure und Erwärmen der mit Sand und anorganischer Nährlösung gemischten Seife auf 50° bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction, hergestellt war. Auf anderen Seifen der Akalien fand überhaupt kein Wachsthum statt, vermuthlich wegen der unter Auftreten freien Alkalis so leicht vor sich gehenden Zersetzung der Natron- und Kaliseifen. Demnach scheint die Bildung anorganischer Fettsäure-Verbindungen die Aufnahme der Fettsäuren nicht zu begünstigen. Aehnliche Versuche aber mit Verbindungen der Fettsäuren mit organischen Substanzen anzustellen, würde über die Frage keinen Aufschluss gegeben haben; denn im Falle dadurch gebotener günstigerer Entwickelungsbedingungen, konnte der abgespaltene organische Körper die Ursache letzterer gewesen sein.

Da bei der Bildung wasserlöslicher Seifen, zugleich aber die Bedingungen für eine Emulgirung des Fettes durch dieselben gegeben sind, und ein Theil des Fettes dann in Form einer Emulsion von den Pilzzellen aufgenommen werden kann, so versuchte ich auf folgende Weise zu einem Resultate zu gelangen. — Geht Oel als solches, ohne eine chemische Umwandlung zu erleiden, durch eine Membran, so muss es auch wasser-

unlösliche Farbstoffe, mit in die Zellen hineinnehmen. Es wurden daher Culturen von *Aspergillus niger* und *Phycomyces nitens* auf Oel und Oelsäure hergestellt, welche beide mit Alkannin, Chlorophyll oder einem käuflichen, als Oel-Violett oder einem solchen als Oel-Schwarz bezeichneten Fettfarbstoffe gefärbt waren. Von den auf diesen gefärbten Fetten gewachsenen Pilzen enthielt *Phycomyces nitens* deutliche Oeltröpfchen in den Zellen; jedoch waren solche auch in Pilzen nachzuweisen, welche auf Glycerin und Ammontartrat oder auf Traubenzucker-Lösungen gewachsen waren. In keinem Falle konnte indessen eine Färbung der in den Zellen befindlichen Fetttropfen mit Sicherheit nachgewiesen werden. — Das negative Resultat kann aber nicht als Beweis gegen eine derartige Aufnahme der Fette angesehen werden, da die in den Pilzzellen vorhandenen Fetttröpfchen wegen ihrer Kleinheit nur eine sehr starke Färbung würden haben erkennen lassen, und die Farbstoffe überdies auch durch irgend einen Vorgang konnten in der Zellhaut zurückgehalten worden sein.

Somit war es nicht möglich, aus den Pilzculturen sichere Anhaltspunkte über die Aufnahme der Fettsäuren durch die Pilzzellen zu gewinnen.

Versuche über die künstliche Einführung von Fetten in lebende Pflanzenzellen.

Der Grund, weshalb die Pilze keinen Aufschluss über die Aufnahme der Fette und Fettsäuren geben konnten, liegt einestheils in dem Umstande, dass Fetttröpfchen einen häufigen Bestandtheil des Zelleninhaltes derselben bilden, sodann aber auch in der Kleinheit der Zellen. Beide Uebelstände mussten sich bei der Auswahl anderer Versuchsobjekte vermeiden lassen.

Zunächst schienen die Blätter verschiedener Moose ein geeignetes Material zu bilden. Sie bieten ausserdem den Vortheil, dass sie ein ziemlich starkes Austrocknen vertragen. Ich wählte deshalb Moose, welche möglichst grosse Blattzellen besitzen und an trockenen Standorten wachsen. Es kamen verschiedene Arten zur Verwendung, unter anderen auch *Barbula muralis*, *Bryum caespiticum*, *Ceratodon purpureus* und *Atrichum undulatum*. Da, wie Nägeli nachwies, in älteren Blättern häufig Oeltropfen angetroffen werden, so dienten nur die jüngeren Blätter zur Untersuchung; indessen fand ich bei älteren Blättern auch dann nur Oel, und zwar in sehr geringer Menge, wenn schon deutliche Degeneration der Chlorophylkörner eingetreten war.

Die Moose wurden in einem Zimmer, dessen Temperatur nahezu gleichmässig 28° C betrug, 8 Tage lang an der Luft getrocknet. Nach dieser Zeit überzeugte ich mich, dass die Blätter nach dem Aufweichen in Wasser in den Zellen keine Oeltropfen enthielten, sowie dass die Zellen

bei Anwendung von 5% Salpeterlösung deutliche Plasmolyse gaben, welche sich durch Ersatz der Salpeterlösung durch Wasser wieder rückgängig machen liess, als Beweis, dass die Zellen nicht abgestorben waren.

Bringt man diese, so getrockneten Moose mit Oel oder Oelsäure zusammen, so saugen sie beides sofort, wie ein Schwamm auf. Um das Eindringen der Fette zu beschleunigen wurden die Moose dann unter die Luftpumpe gebracht. Da beim Evakuiren schnell alle anhängende Luft entfernt wird, so überziehen sich die Moose in kürzester Zeit mit einer vollständigen Fettschicht. Nach einer halben Stunde entfernte ich dann das Oel durch sanftes Pressen zwischen Fliesspapier und warf die Pflanzen in ein Gefäss mit Wasser, worin sie längere Zeit verblieben, indem von Zeit zu Zeit einzelne Exemplare zur Untersuchung herausgenommen wurden.

Es zeigte sich nun, dass die meisten Zellen der Moosblätter noch lebend geblieben waren und noch mit Salpeterlösung Plasmolyse gaben. Einige Zellen, welche abgestorben waren, theils wohl durch das Austrocknen, zum Theil aber auch durch die Behandlung mit dem Oel, gaben sich auf den ersten Blick durch ihren geschrumpften Inhalt als todt zu erkennen.

Diese todten Zellen nun enthielten sehr reichliche Mengen Fett, sowohl von Oel, als auch von Oelsäure, und zwar waren diese, in den Zellen befindlichen Oeltropfen, wenn mit Alkannin gefärbtes Fett verwandt war, ebenfalls deutlich gefärbt. Um zu entscheiden, ob das Oel in die Zellen durch die Zellwand, und nicht durch unbemerkte Risse in derselben, eingedrungen war, wurde den Blättern nach Absaugen des Wassers unter dem Deckglase koncentrirtes Glycerin zugegeben. Es erfolgte dann fast in allen Fällen ein augenblickliches Zusammenklappen der Zellen, da das Glycerin ihnen schneller Wasser entzieht, als es selbst in die Zellen einzudringen vermag. — Wären die Zellwände dagegen verletzt gewesen, so konnte diese Erscheinung nicht eintreten.

In den Zellen, deren Plasmakörper lebend war, liess sich ebenfalls Oel nachweisen, obwohl die in ihnen enthaltene Menge nur sehr gering war, meist nur aus wenigen Tröpfchen bestand. Dieselben befanden sich kurze Zeit, nachdem die Moose aus dem Fett ins Wasser gebracht worden, fast nur zwischen Plasmakörper und Zellwand, wie dies bei Anwendung von Plasmolyse konstatirt werden konnte. Später dagegen, nach 24 und 48 Stunden enthielt auch das Plasma selbst deutliche Oeltropfen, welche, wie man sich mit Bestimmtheit überzeugen konnte, bei längerem Verweilen der Moose im Wasser, von Tag zu Tag kleiner wurden und eine feinere Vertheilung annahmen, also offenbar durch das Plasma emulgirt wurden. — Eine Färbung dieser Oeltropfen war in den lebenden Zellen allerdings nicht zu erkennen, wenn es auch oft den Anschein hatte, sobald man die kleineren Tröpfchen sich vereinigen liess, dadurch,

dass man die Blätter mehrere Tage in concentrirtes Glycerin legte. Vielleicht hinderte also nur die feine Vertheillung des Fettes die Erkennung der Farbe. In der That ist auch eine Färbung kleiner Tröpfchen kaum zu erkennen, wenn man mit Alkannin gefärbtes Fett mittelst Gummischleim möglichst fein emulgirt und so unter das Mikroskop bringt.

Dies Eindringen des Fettes in die Zellen beobachtete ich sowohl, wenn ich mit Oelsäure, als auch, wenn ich mit Neutralfett experimentirte. — Letzteres war zur Entfernung freier Säure wiederholt mit Alkohol geschüttelt, wodurch man allerdings, wie Stohmann nachwies, seinen Zweck nur annähernd erreicht. — Man hat es hier entschieden mit einem mechanischen Eindringen des Fettes in die Zellen zu thun, wie dies aus der deutlichen Färbung der in den todten Zellen befindlichen Oeltropfen unzweifelhaft hervorgeht. Es ist auch kein Grund vorhanden, ein mechanisches Eindringen zu bezweifeln, da Oel durch trockene Membranen mit Leichtigkeit hindurchgehen kann. Dazu kommt, dass beim Auspumpen, auch die, in den Zellen befindliche Luft verdünnt worden sein wird, und das Fett beim Wiederkehren des gewöhnlichen Luftdrucks mit einer gewissen Kraft gegen die Zellwände gepresst und dadurch sein Eindringen in die Zellen wesentlich erleichtert wurde. Beim darauf folgenden Einlegen der Moose in Wasser wird nun der Plasmakörper, welcher in den trocknen Zellen jedenfalls nicht überall der Zellwand anlag, bei der Rückkehr der Turgescenz, das, in die lebenden Zellen eingedrungene Fett zum guten Theil wieder nach aussen gepresst haben. Ein Theil desselben blieb jedoch zwischen Plasma und Zellhaut zurück, da letztere gleichzeitig Wasser imbibirte, und dadurch für das Fett einerseits weniger leicht passierbar war, als im trocknen Zustande. Andererseits wird das in die Zellhaut eindringende Wasser auch das, in den intermicellaren Zwischenräumen befindliche Fett theilweise in die Zellen zurückgetrieben haben, da Wasser von einer mit Oel oder Oelsäure benetzten Cellulosehaut das Fett verdrängt, während umgekehrt auf einer Glasplatte Wasser durch Oel zurückgedrängt wird. Ich stellte mir genau nach der von Baranetzky[1]) angegebenen Methode Cellulosemembranen her. Dieselben wurden auf einer Glasplatte befestigt, damit sie sich beim Trocknen nicht zusammenkräuselten, und dann an der Luft abtrocknen lassen. Oel, wie auch Oelsäure liessen sich dann leicht in dünner Schicht auf der Oberfläche der Membran ausbreiten, ohne dass sie unter Tropfenbildung zusammenliefen. Brachte ich nun aber von einer Seite her einige Tropfen Wasser auf die Häute, so durchtränkte dasselbe die letzteren und breitete sich auch in dünner Schicht an der Oberfläche aus, indem es dabei langsam das Fett vor sich hertrieb. Letzteres zieht sich zusammen und bleibt

1) Baranezky, Diosmotische Untersuchungen. Poggd. Annalen 1872. Bd. 147.

schliesslich als einzelne abgerundete Tropfen auf der wasserdurchtränkten Cellulosehaut liegen. In gleicher Weise wird nun auch das von den trockenen Zellwänden der Moosblätter imbibirte Oel von Wasser verdrängt worden sein, und da letzteres die Zellen allseitig von aussen umgab, so wird das in den intermicellaren Zwischenräumen der Zellwände befindliche Fett von dem nachdringenden Wasser in die Zellen hineingetrieben worden sein. Auf einen solchen Vorgang wies schon Hofmeister[1]) hin. Er brachte mit Citronenöl oder Mandelöl durchtränkte Zellhäute in Wasser. Dieses verdrängte dabei das Oel, welches in Tropfenform aus der Cellulosehaut heraustrat.

Wichtiger als der Durchgang des Oeles durch die trockenen Zellhäute ist aber die, demselben folgende Aufnahme der zwischen Zellwand und Protoplasmakörper der Zelle befindlichen Oeltropfen in den letzteren, worauf weiter unten näher eingegangen werden wird.

Moose, welche nicht vorher getrocknet, sondern nur durch sanftes Pressen zwischen Fliesspapier von anhängender Feuchtigkeit befreit worden waren, wurden zwar auch von Oel und Oelsäure benetzt; jedoch war nach zwei Stunden noch kein Eindringen in die Blattzellen bemerkbar. Es ist möglich, dass bei längerer Berührung mit dem Fett auch hier ein Durchgang zu erreichen gewesen wäre; doch sterben dann alle Zellen ab, wahrscheinlich wegen zu langem Abschluss des Sauerstoffes. Aus demselben Grunde gelang es auch nicht, eine Aufnahme von Fetten in die Wurzelhaare von *Trianea bogotensis, Chara spec.* oder in die Blätter von *Valisneria spiralis* zu erzielen.

Als ein vorzügliches Material, für die künstliche Einführung von Fetten in lebende Zellen, deren Wände den normalen Wassergehalt besitzen, erwiesen sich endlich Keimlinge der verschiedensten Pflanzen. Es gelang mir die Einführung bei allen Keimlingen, welche ich versuchte, ebenso bei etiolirten Kartoffeltrieben. Es sind aber Mikrosomen, früh ergrünende Chlorophyllkörner, transitorische Stärke, ebenso ein starker Gerbstoffgehalt der sicheren Erkennung des Oeles in den Zellen sehr hinderlich, so dass die verschiedenen Keimlinge aus diesen Gründen mehr oder weniger brauchbar sind. Die empfehlenswerthesten Versuchsobjecte bilden im Dunkeln erzogene Erbsenkeimlinge, besonders zu der Zeit, wenn die Reservestoffe des Samens verbraucht sind. Um die Herbeiführung dieses Stadiums zu beschleunigen, kann man, ohne der Pflanze zu schaden, nach der Keimung über die Hälfte der Cotyledonen abschneiden. Die Pflanzen erreichen dann im Dunkeln ungefähr eine Grösse von 30—40 cm und sind, sobald das Wachsthum aufhört, für unsere Zwecke vorzüglich brauchbar. Versuche zeigten mir, dass durch Entfernen eines Theiles des Reservematerials die Fähigkeit der Fettaufnahme weder im

1) Hofmeister, D. Lehre von der Zelle 1867. pg. 226.

günstigen, noch im ungünstigen Sinne beeinflusst wird. Da die Pflanzen indessen nicht so lang werden, so knicken sie an der Einführungsstelle weniger leicht ein, und erhalten sich deshalb länger frisch.

Die Einführung geschah in der Weise, dass ich im untersten längeren Internodium, also etwa 3 cm vom Boden entfernt, mit einem feinen scharfen Messer einen etwa 1 cm langen Längsschnitt durch die Mitte des Stengels führte und in denselben vorsichtig einen, mit den zur Verwendung gelangenden Fetten, getränkten Streifen Fliesspapier einschob. Ein solcher Schnitt schädigt die Pflanze nicht in dem Maasse, dass sie abstirbt. Allerdings knicken, besonders grosse Exemplare, leicht nach einigen Tagen an der Schnittstelle ein und vertrocknen langsam von derselben an. Dieser Umstand erklärt sich aber dadurch, dass das Fett sich von dem Einschnitt aus schnell in die umliegenden Gewebe verbreitet. Da es dort nun in sehr grosser Menge vorhanden ist, so erschwert es durch sein massenhaftes Eindringen in die Zellwände den Wassertransport. Es geht dies besonders aus den später zu erwähnenden Versuchen mit festen Fetten hervor. Waren letztere nämlich, wenn auch in sehr reichlicher Menge, nur in den Intercellularen vorhanden, so zeigten die Keimlinge, wenn sie oberhalb der Schnittstelle abgeschnitten wurden, tagelang starke Blutung. Letztere trat aber nicht ein, sobald eine Aufnahme der festen Fettsäuren in die Zellen stattgefunden hatte. — Führt man ferner in den Einschnitt einen Streifen Fliesspapier, das mit festem Paraffin getränkt ist, so wachsen die Pflanzen, ans Licht gebracht, ruhig weiter, ohne dass eine Schädigung durch den Schnitt zu bemerken wäre. Ein gleiches Verhalten zeigten auch Keimlinge, bei denen der Schnitt nicht durch die Mitte des Stengels, sondern nur seitlich durch das Parenchym geführt war. Das Fett verbreitete sich dann in der Höhe der Einführungsstelle nicht auf dem ganzen Querschnitt, besonders wenn es nicht im Ueberschuss geboten wurde, also in nicht ausreichender Menge vorhanden war, die grössere Hälfte seitlich vom Schnitt zu durchtränken. Es trocknete eben dann nur die vom Fett stark-durchtränkte kleinere Hälfte des Stengels an der Einführungsstelle ein, während der übrige Theil frisch blieb und hinreichte, die ganze Pflanze mit Wasser zu versorgen. Dieselbe blieb dann wochenlang frisch und wuchs, ans Licht gebracht ruhig weiter. Zur Untersuchung gelangten natürlich stets nur solche Pflanzen, welche ein völlig gesundes Aussehen hatten und auch an der Einführungsstelle noch keinerlei Anzeichen beginnenden Wassermangels zeigten.

Betrachten wir zunächst die mit reiner Oelsäure angestellten Versuche. — Von der Schnittstelle aus verbreitet sich dieselbe nach oben und unten, indem sie sich durch Capillarität in den angeschnittenen Gefässen und den Intercellularen empor zieht. Besonders erfolgt dieses Ansteigen in den, unter der Epidermis gelegenen Gewebsparticen, am wenigsten im Mark. Bei Anwendung von, mit Alcannin gefärbter Oelsäure kann man diese Verbreitung leicht mit blossem Auge ver-

folgen. Macht man nach einiger Zeit in verschiedener Höhe Querschnitte, so sind dieselben dicht über der Schnittstelle gleichmässig gefärbt; bald jedoch tritt das Mark als hellerer Fleck hervor und dieser wird immer grösser, je weiter nach der Spitze zu der Querschnitt geführt wurde, bis zuletzt nur noch ein feiner rother Ring dicht unter der Epidermis erkennbar ist. Die Schnelligkeit des Aufsteigens kann man aus dem Grunde bei Anwendung gefärbter Oelsäure auch leicht von aussen verfolgen. Die Färbung des Stengels war nach einer Stunde schon 2 cm hoch über dem oberen Rande des Einschnittes erkennbar und nach 12 Stunden war dieselbe durch mehrere Internodien hindurch schon 20 cm weit nach oben vorgedrungen.

Von den Intercellularen aus dringt die Oelsäure in die lebenden Zellen des Gewebes ein. Auch dieses erfolgt mit ziemlicher Schnelligkeit. Drei Stunden, nachdem der mit Oelsäure getränkte Streifen Fliesspapier in den Schnitt eingeführt war, konnte ich schon, 2 cm über dem oberen Rande des letzteren, die ersten Fetttröpfchen in den Zellen mit Sicherheit nachweisen. Ebenso erschienen die Fetttröpfchen überall in den Zellen, 2—3 Stunden, nachdem die von aussen erkennbare Färbung zeigte, dass die Oelsäure in den Intercellularen dorthin gelangt war.

Da die grosse Menge Fett, welche sich in den Intercellularen des angeschnittenen Internodiums befindet, keine deutlichen Bilder zulässt, so beobachtet man das Verhalten des Fettes in den Zellen am besten nicht in dem angeschnittenen Internodium, sondern in Längsschnitten, welche aus dem darüberliegenden oder dem nächstfolgenden Internodium hergestellt wurden, und zwar vortheilhaft am zweiten oder dritten Tage nach der Einführung der Oelsäure. Dort ist dieselbe in den Intercellularen nur noch in so geringer Menge vorhanden, dass sie die Klarheit der Bilder nicht beeinträchtigt, während die Zellen selbst kaum weniger Fetttropfen erkennen lassen. — Dieselben fanden sich in allen lebenden Zellen, doch in ungleicher Menge.

Die Markzellen, deren Plasma nur einen dünnen Wandbelag bildete und eine grosse Vacuole umschloss, enthielt nur dicht über der Einführungsstelle wenige kleine Fetttröpfchen im Plasma eingelagert, wie bei der Plasmolyse deutlich zu erkennen war. Die Zellen des Parenchym hingegen, besonders aber diejenigen der Epidermis und der darunter liegenden Rindenschicht waren ganz ausserordentlich stark mit Fetttropfen erfüllt, welche sich in allen Grössen, von den kleinsten bis zu solchen von 4 μ Durchmesser vorfanden.

In den Zellen befindet sich das Fett am meisten im Plasma eingelagert, in geringer Menge zwischen Plasma und Zellwand, sowie auch zuweilen in der Zellflüssigkeit. Der Beweis dafür, dass die Hauptmasse des Fettes thatsächlich dem Plasma eingelagert ist, ist leicht zu erbringen. Ruft man in den Zellen durch Salpeterlösung Plasmolyse hervor, so sieht man deutlich, wie die Oeltropfen von dem, sich zusammenziehenden

Plasmakörper mit fortgenommen werden und in das Innere der Zelle wandern. Ihre Menge ist häufig so gross, dass dabei eine deutliche Abplattung der Tropfen gegen einander bemerkbar ist. Trotzdem findet dabei aber keine Vereinigung derselben statt. Letztere erfolgt jedoch bald, wenn man das Plasma durch Zusatz von Jodlösung oder Pikrinsäure tödtet. Noch schneller findet dieser Vorgang statt, wenn man dem Präparat nach Absaugen der Salpeterlösung concentrirtes Glycerin zusetzt. Das Plasma wird dadurch sofort getödtet, erstarrt aber nicht momentan, wie bei Tödtung mit Jod oder Pikrinsäure. Während es sich vorher unter dem Gleichgewichtszustand, hervorgerufen durch die osmotische Druckkraft der Salpeterlösung einerseits und des Zellsaftes andererseits, in Ruhe befand, nimmt es bei Zutritt von concentrirtem Glycerin plötzlich eine fliessende Bewegung an, so dass es den Eindruck einer dick-flüssigen Masse macht, welche erst nach Verlauf einiger Minuten erstarrt. Man kann während dieses Vorgangs unter dem Mikroskop das Zusammenlaufen der Oeltropfen leicht verfolgen, welches durch diese Bewegung des getödteten Plasmakörpers wesentlich befördert wird. Betrachtet man das Präparat, nachdem es 24-48 Stunden der Ruhe überlassen wurde, so findet man jetzt in den Zellen nur einen oder wenige grosse Oeltropfen, welche entweder von dem nun körnig und starr gewordenen Plasma umgeben, oder auch aus ihm herausgetreten sind und ihm äusserlich anhaften.

Zwischen Zellwand und Plasmakörper ölhaltiger Zellen bemerkt man nach stattgehabter Plasmolyse sehr häufig einen oder wenige kleine Oeltröpfchen. Ich habe dieselben indessen lange nicht in allen Zellen angetroffen, selbst wenn letztere sehr reichlich Fett aufgenommen hatten; im Durchschnitt fand ich die Oeltröpfchen bei 40-50% der Zellen. Diese Oeltröpfchen zeigen eine sehr lebhafte Molekularbewegung, während die, im Plasma eingebetteten, selbst wenn sie viel kleiner sind, kaum eine Bewegung erkennen lassen. Man kann sich durch sehr genaue Einstellung sicher davon überzeugen, dass diese Oeltröpfchen auch wirklich in den Zellen liegen und nicht etwa ausserhalb derselben oder in einer darüber liegenden angeschnittenen Zelle. Diese Sicherheit ist allerdings nicht immer ganz leicht zu erlangen, da bei der Contraction des Plasmakörpers zwischen diesem und der oberen Zellwand ein, von Salpeterlösung erfüllter Raum entsteht, in welchem die, ausserhalb des Plasmakörpers liegenden Oeltröpfchen in lebhafter Molecularbewegung umhertanzen. In zweifelhaften Fällen beobachtet man am besten bei einer durch sehr verdünnte Salpeterlösung hervorgerufenen, sehr langsamen Plasmolyse, oder indem man letztere durch allmählige Verdünnung der angewandten Salpeterlösung langsam wieder rückgängig macht. Bei Rückkehr des Turgor bemerkt man dann, wie der Tropfen von dem Plasmakörper an die Zellwand angepresst wird.

Dass diese, zwischen Zellwand und Plasma befindlichen Tröpfchen wirklich Oelsäure sind, ergiebt sich aus ihrer Löslichkeit in Alkohol; denn eine Färbung mit Alcannatinktur lassen sie wegen ihrer Kleinheit nicht erkennen.

Könnte die Oelsäure die Zellhaut nicht ohne direkte Mitwirkung des Plasmakörpers durchdringen, oder wäre die Plasmahaut für dieselbe impermeabel, so könnten die, zwischen Zellwand und Plasmakörper befindlichen Tröpfchen auch mit einem Theil des Plasma von diesem bei der Plasmolyse losgerissen worden sein, wie dies thatsächlich bei schneller Plasmolyse mittelst concentrirter Salpeterlösung möglich ist. Die Tröpfchen müssten dann mit einer sehr dünnen Plasmahülle umgeben sein. Eine solche ist indessen weder mit Hülfe sehr starker Vergrösserungen, noch von Reagentien nachzuweisen, auch blieb beim Lösen der Tropfen in absolutem Alkohol keine Plasmahaut zurück. Endlich finden sich diese Tröpfchen auch beim langsamen Abheben des Plasmas von der Zellwand mittelst sehr verdünnter Salpeterlösung, wobei jedenfalls die zum Abreissen von Plasmatheilen nöthige Kraft nicht vorhanden ist.

In der gleichen Weise, wie mit Oelsäure, experimentirte ich nun auch mit Mandelöl, das ja fast lediglich aus dem Oelsäuretriglycerid besteht, und durch wiederholtes Schütteln mit Alkohol möglichst von freier Säure befreit war, ferner auch mit einem Gemisch dieses Oeles mit 10 und mit 20% freier Säure. — Dabei zeigten sich keine äusseren Verschiedenheiten bei dem Eindringen der Fette in die Pflanzen. Nur die Schnelligkeit, mit der dieselben in den Intercellularen aufstiegen und von den Zellen aufgenommen wurden, ist eine verschiedene, sie nimmt mit fallendem Gehalt an freier Säure ab. Während reine Oelsäure eine Stunde nach der Einführung schon 2 cm hoch, nach 12 Stunden aber 15—20 cm weit vorgedrungen war, so war reines Mandelöl nach 12 Stunden erst 7 cm, solches mit 10 und 20% freier Säure nur 9—10 cm über der Schnittstelle in den Intercellularen nachweisbar.

Ebenso wird das Eindringen der Fette in die Zellen mit dem Fallen des Säuregehaltes verlangsamt. Oel mit 20% freier Säure trat erst nach 24 Stunden, solches mit 10% Säure erst nach 48 Stunden in nachweisbarer Menge in den Zellen auf. Die Quantität desselben nahm allmählig in den folgenden Tagen zu, erreichte jedoch nie die Grösse, wie bei Anwendung reiner Oelsäure. Bei reinem Mandelöl habe ich erst nach 10 Tagen in den Zellen der Epidermis und der darunter liegenden Gewebe geringe Mengen Oel nachweisen können; auch nach weiteren 10 Tagen hatte dieselbe nicht deutlich zugenommen.

Es ist sehr schwer, so kleine Mengen Oel, wie sie in diesem Falle fein vertheilt im Plasma vorkommen, mit Sicherheit zu identificiren. Die

sonst gebräuchliche Alcanna-Reaction lässt hier wegen der Kleinheit der Tröpfchen vollkommen im Stich. Ausserdem führen die Zellen meist auch andere körnige Bestandtheile, welche sehr kleinen Oeltropfen ähneln, und bei denen auch das Lichtbrechungsvermögen keine ganz zuverlässige Unterscheidung gestattet. — Da nun keine andere Möglichkeit gegeben war, das Oel bestimmt als solches nachzuweisen, so war ich darauf beschränkt, mir die nöthige Sicherheit in der Erkennung durch Combination mehrerer, einander ergänzender Reactionen zu verschaffen. In der That gelang mir dies auch in den meisten Fällen, wenn auch durch sehr umständliche und langwierige Manipulationen. Vor allem ist es nöthig, um Täuschungen auszuschliessen, von vornherein eine Zelle sicher im Gesichtsfelde des Mikroskopes zu fixiren, und alle Operationen auf dem Tische des Mikroskopes unter steter Beobachtung auszuführen. Die Schnitte kamen zuerst in eine 7% Salpeterlösung. Man konnte dabei, indem man die Plasmolyse unter dem Mikroskop verfolgte, deutlich unterscheiden, welche von den in der Zelle befindlichen Körnchen im Plasmakörper verbleiben. Jetzt erfolgt die Einstellung einer bestimmten Zelle, die ein Resultat zu geben verspricht, und Fixirung des Präparates auf dem Mikroskoptische. Nach beendeter Plasmolyse wurde dann die Salpeterlösung durch concentrirtes Glycerin ersetzt, indem man von der einen Seite die Salpeterlösung vom Rande des Deckgläschens absaugt, da es darauf ankommt, dass sich das Glycerin nicht mit derselben vermischt, sondern unverdünnt an das Präparat gelangt. Dabei erkennt man durch anfängliches Zusammenfallen der Zellhäute auch, dass diese unverletzt sind und etwaige Oeltropfen nicht durch einen Riss oder dergleichen in die Zelle gelangt sind. Durch die Wirkung des Glycerins findet die oben beschriebene Degeneration des Plasmakörpers statt, welche man solange verfolgt, bis die anfangs fliessende Plasmamasse starr geworden ist, und man sie später wieder erkennen kann. Unter zeitweiliger Controlle überlässt man das Präparat 24—48 Stunden der Ruhe, um den Oeltröpfchen möglichst Zeit zu gewähren, sich zu grösseren Tropfen zu vereinigen und dadurch die Möglichkeit der Erkennung zu erleichtern. Sobald dies geschehen, prüft man mittelst Jodlösung auf die Anwesenheit transitorischer Stärke, die ebenfalls leicht zu Verwechselungen Veranlassung geben kann. Dabei nehmen Fetttropfen eine glänzend gelbe Farbe an, während Mikrosomen und Leukoplasten mehr mattgelb erscheinen. — Das Jod wird dann durch verdünnten Alkohol entfernt und durch eine, aus 70% Alkohol bereitete Alcannatinctur ersetzt, welche ihrerseits durch verdünntes Glycerin verdrängt wird. Wegen des in den Intercellularen befindlichen Oeles muss man die Alcannatinctur etwas länger als gewöhnlich wirken lassen. Dabei lässt sich nun nicht vermeiden, dass auch das todte Plasma etwas gefärbt wird, doch ist die Färbung desselben eine matt-rothbraune, von dem sich die grösseren

Oeltröpfchen durch eine glänzend-rothe Farbe abheben. Endlich wurden dann die Präparate nach einander mit Alkohol, Aether, wieder mit Alkohol und verdünntem Glycerin behandelt, um die Löslichkeit der Tropfen in denselben zu prüfen. Durch diese, sich einander ergänzenden Reactionen konnte ich fast in allen Fällen unterscheiden, ob ich es wirklich in den Zellen mit Oeltröpfchen zu thun hatte, wo mich die eine oder andere Prüfung im Stich liess.

Die geringe Menge Fett, welche sich bei Anwendung von Mandelöl nach frühestens 10 Tagen in Erbsenkeimlingen nachweisen lässt, kann indessen doch noch auf Vorhandensein freier Säure zurückgeführt werden. Einerseits ist Oel durch Schütteln mit Alkohol nicht völlig von freier Säure zu befreien, und dann findet sich das Neutralfett in den Intercellularen in steter Berührung mit Luft und Wasser, also unter Bedingungen, welche eine spontane Spaltung desselben sehr begünstigen. — Andererseits kann aber von den Zellen selbst eine solche Spaltung nur in sehr untergeordnetem Maasse hervorgerufen sein; denn in dem Falle musste der Eintritt des Oeles in die Zellen in viel reichlicherem Maasse und bedeutend schneller erfolgen, da, wie wir aus den Pilzculturen sahen, Pilze deren Zellen sich erst entwickeln mussten, in 5 Tagen in dem Oel 24,5% freier Säure abspalteten und Oel mit 20% freier Säure sich in 24 Stunden mit Sicherheit und in viel grösseren Mengen in den Zellen nachweisen liess, als dies jemals beim Mandelöl der Fall war. Die Versuche beweisen demnach entschieden die Unfähigkeit reinen Neutralfettes ohne Mitwirkung freier Säure, die Zellhaut zu durchdringen.

Es war nun aber möglich, dass die Einführung von Neutralfetten bei solchen Pflanzen gelingen könnte, bei deren Entwickelung aus ölhaltigen Samen Oelwanderung stattfindet, und deren Zellen daher für die Aufnahme von Oel geeigneter sein konnten, da die Pflanzen vielleicht der Verarbeitung von Oel besonders angepasst sind. Ferner mussten auch anders zusammengesetzte Oele berücksichtigt werden, besonders die Leinölsäure, welche, wie wir später sehen werden, für die Oelwanderung besonders geeignet ist.

Es wurden deshalb Keimlinge von *Helianthus annuus* und *Ricinus communis* durch Aushungern von den in ihren Zellen befindlichen Reservestoffen befreit, und nun mit ihnen dieselben Versuche angestellt, wie dies bei den Erbsenkeimlingen mit Mandelöl und Oelsäure geschehen. Als Fette wurden die, aus den Samen beider Pflanzen durch Extraction mit Aether erhaltenen Fette, sowie die aus diesen dargestellten freien Säuren verwandt. Von diesen Oelen besteht das von *Helianthus* zum grossen Theil aus dem Triglyceride der Leinölsäure, und bei der Entwickelung von *Helianthus annuus* findet thatsächlich Oelwanderung statt. Diese Versuche ergaben jedoch dieselben Resultate. Die Neutralfette liessen nach 5 Tagen noch keine Aufnahme in die Zellen erkennen,

während die freien Säuren leicht eindrangen, und Gemische derselben mit den Neutralfetten um so schneller, je höher ihr Gehalt an freier Säure war.

Es erübrigte nun noch, festzustellen, ob Pflanzen von den Intercellularen aus auch feste Fette aufnehmen können, da die Möglichkeit der Verarbeitung derselben durch die Versuche mit Pilzculturen festgestellt war, und auch feste Fette zuweilen als Reservestoffe vorkommen. Zu den Versuchen dienten, wie bisher die Keimlinge von *Pisum sativum* sowie solche von *Vicia Faba*. — Als Fett wurde Cacaobutter gewählt, da dieselbe schon bei 29° schmilzt. Bei höherer Temperatur schmelzende Fette sind für die Einführung deshalb nicht brauchbar, weil die Pflanzen bis über den Schmelzpunkt des Fettes erhitzt werden müssen, und dieselben eine Temperatur über 40° nicht aushalten dürften. Die angewandte Cacaobutter, welche aus den Glyceriden der Palmitinsäure, Stearinsäure, Arachinsäure und Oelsäure besteht, enthielt fast gar keine freie Säure; denn 1 gr derselben in siedendem Alkohol gelöst, wurde durch einen Tropfen $^1/_2$ normal Kalilauge schon alkalisch. Wurden nun Papierstreifen, welche mit geschmolzener Cacaobutter getränkt waren, nach dem Wiedererstarren in die Schnitte der Keimlinge eingeführt, so wuchsen die letzteren ruhig weiter, ohne dass jemals ein Vordringen der Cacaobutter in die Intercellularen oder eine Aufnahme des Fettes in die Zellen stattgefunden hätte. Auch irgendwelche Schädigung der Pflanzen durch die Einführung war nicht zu bemerken. Wurden die Pflanzen zwei bis drei Stunden im Brütofen bei 38° gehalten, so schmolz die Cacaobutter wieder, und stieg nun, gerade, wie die Oelsäure in den Intercellularen der Pflanzen auf. Bei Anwendung gefärbten Fettes konnte man genau sehen, wie weit dasselbe vorgedrungen war. Die Pflanzen wurden nun wieder in gewöhnliche Temperatur gebracht, so dass das Fett in den Intercellularen erstarrte, und nun von Zeit zu Zeit Schnitte gefertigt, und zwar in einer Höhe, wohin das Fett eben noch in den Intercellularen vorgedrungen war. Es war also hier nur sehr kurze Zeit flüssig in den Intercellularen gewesen, und dann sofort erstarrt. Ein Eintritt des Fettes in die Zellen fand selbst nach längerer Zeit nicht statt. Ebenso wenig geschah dies aber auch, wenn die Pflanzen mehrere Tage im Brütofen verblieben waren, das Fett also während dieser Zeit flüssig in den Intercellularen geblieben war. — Im letzteren Falle ergaben also die Versuche dieselben Resultate wie flüssige Neutralfette, nur mit dem Unterschiede, dass hier selbst nach 10 Tagen kein Eindringen zu bemerken war, nach welcher Zeit die Pflanzen anfingen zu Grunde zu gehen.

Eben diese Versuche wurden nun auch mit festen freien Fettsäuren wiederholt. Als solche dienten einerseits die aus der Cacaobutter dargestellten Säuren, da diese aber eine geringe Menge Oelsäure enthalten,

so wurde andererseits auch mit reiner Palmitinsäure experimentirt. Die Schmelzpunkte dieser Säuren liegen nun aber zu hoch, als dass sie direkt verwendbar gewesen wären; die Säuren der Cacaobutter schmelzen bei 51°, die verwandte Palmitinsäure sogar erst bei 62°. Die Säuren wurden daher mit soviel reinen, entsäuerten Mandelöls zusammengeschmolzen, so dass ihre Schmelzpunkte auf 35° erniedrigt wurden. Parallelversuche mit Pflanzen, welche denselben Bedingungen unterlagen, zeigten, dass das verwandte Mandelöl nicht in die Zellen aufgenommen wurde. Während eines zweistündigen Aufenthaltes im Brütofen drangen die Säuren in reichlicher Menge in die Intercellularen ein, und erstarrten in denselben, sobald die Pflanzen auf gewöhnliche Temperatur abgekühlt wurden. Ein Eindringen der erstarrten Säuren in die Zellen fand jedoch in keinem Falle statt, selbst nicht nach 14 Tagen, während welcher Zeit die Pflanzen völlig frisch geblieben waren und beim Abschneiden oberhalb der Einführungsstelle sogar stark bluteten. — Verblieben dagegen die Pflanzen zwei Tage lang im Brütofen, so waren die Fettsäuren in sehr reichlicher Menge in die Zellen der Pflanzen eingedrungen, in denen sie dann beim Sinken der Temperatur erstarrten. Beim vorsichtigen Erwärmen der aus den Pflanzen hergestellten Längsschnitte auf 40° schmolzen die in den Zellen befindlichen Fettmassen. Dann konnte man auch constatiren, dass die Zellen noch lebten; denn mit, auf 40° erwärmter, 5% Salpeterlösung gaben sie deutliche Plasmolyse, welche beim Ersatz der Salpeterlösung durch, ebenfalls auf 40° erwärmtes Wasser wieder rückgängig wurde. Während also die Fettsäuren im geschmolzenen Zustande, ebenso, wie die Oelsäure leicht in die Zellen eindringen konnten, fand dagegen keine Aufnahme in die Zellen statt, sobald sie in den Intercellularen erstarrt waren.

Ganz in derselben Weise wurden endlich auch Versuche mit einem Gemenge von freier Oelsäure und Cacaobutter angestellt, welches so gewählt war, dass sein Schmelzpunkt bei 23° lag; es enthielt ungefähr 30—40% freier Oelsäure. Wurde es, wie angegeben in den Intercellularen erstarren gelassen, so fand keine Aufnahme in die Zellen statt. Im geschmolzenen Zustande geschah dies jedoch leicht und schnell. Waren die Pflanzen zwei Tage lang im Brütofen verblieben, und dann auf 17° C abgekühlt, so zeigte es sich, dass die Zellen reichlich mit Fett erfüllt waren. Die Fetttröpfchen waren ziemlich fein im Plasma vertheilt und zeigten kein glänzendes, sondern ein matt-körniges Aussehen. Bei Einwirkung von concentrirtem Glycerin fand im Gegensatz zu reiner Oelsäure kein merkliches Zusammenfliessen der Fetttropfen statt. Es unterlag somit keinem Zweifel, dass letztere im festen Zustande im Plasma eingebettet waren. Wurden die Präparate schwach erwärmt, so schmolzen die Fetttröpfchen, indem sie das gewöhnliche glänzende Aussehen annahmen. Verblieben die Präparate einige Stunden im Brütofen, so liess

sich auch ein deutliches Zusammenlaufen der Fetttropfen erkennen, während dies bei niedrigerer Temperatur selbst nach mehreren Tagen nicht eintrat. Es ergiebt sich daraus, dass das in die Zellen eingedrungene Fett bei gewöhnlicher Temperatur fest war, daher als ein Gemenge von Oelsäure und Cacaobutter anzusprechen sein wird. Da nun letztere in Parallelversuchen unter sonst gleichen Bedingungen nicht in die Zellen eindrang, so kann sie hier nur durch Vermittelung der freien Oelsäure in dieselben hineingelangt sein.

Schliesslich wurden auch Einführungsversuche mit Paraffinöl gemacht. Dasselbe besteht bekanntlich aus hochsiedenden flüssigen Kohlenwasserstoffen der Zusammensetzung $C_n H_{2n+2}$. Dasselbe verbreitete sich ebenso, wie die angewandten Oele in den Intercellularen, drang jedoch niemals in die Zellen ein. Letztere liessen dabei keinerlei Schädigung erkennen.

Alle bisher mitgetheilten Versuche wurden zum Theil mit gefärbten Fetten angestellt, da man bei denselben leicht von aussen verfolgen konnte, wie weit sie in den Intercellularen vorgedrungen waren. Als Farbstoffe dienten Alcannin, Chlorophyll, ferner die käuflichen, als Oel-Violett und Oel-Schwarz bezeichneten Fettfarben. Dieselben sind in Wasser unlöslich, leicht dagegen in Alkohol und fetten Oelen. Wegen ihrer Unlöslichkeit in Wasser können sie nur dann in die Zellen eindringen, wenn sie in einer anderen Flüssigkeit gelöst sind, welche ohne Zersetzung Zellhaut und Plasmahaut zu durchdringen vermag. Würde also das in die Zellen eingedrungene Fett den Farbstoff mit in dieselben hineintransportirt haben, so wäre dies ein Beweis dafür, dass das Oel bei seinem Durchgange durch die Zellwand und die Plasmahaut nur in solche Körper zersetzt worden sein kann, welche ihrerseits ebenfalls Lösungsmittel der Farbstoffe sind. Nun konnte ich aber niemals an den, in den Zellen befindlichen Fetttropfen eine Färbung mit Sicherheit erkennen. Zuweilen schien allerdings, besonders bei Anwendung von Alcannin, eine schwache Färbung der grösseren Oelmassen nach dem Zusammenlaufen in Glycerin, vorhanden zu sein. Da jedoch die Intercellularen reichlich gefärbte Oelsäure enthielten, so kann diese Färbung auch nur eine scheinbare gewesen sein. — Immerhin wurde aber, wenn überhaupt etwas von dem Farbstoff in die Zellen eingedrungen war, doch die Hauptmasse desselben von den Zellwänden zurückgehalten. Demzufolge war auch in verschiedenen Fällen eine deutliche Färbung der Zellwände bemerkbar, durch welche das Fett seinen Durchgang genommen hatte.

Auffallend war es, dass in den obersten Internodium, ungefähr 25 cm über dem Einschnitt, bei der Einführung von Oelsäure, diese noch reichlich in den Zellen und auch theilweise in den Intercellularen vorhanden war, jedoch hier auch in letzteren keine Färbung mehr erkennen

liess. Das Fett hatte also, ohne in die Zellen eingedrungen zu sein, auf dem langen Wege, welchen es in den Intercellularen von der Einführungsstelle an bis in die oberen Internodien zurückgelegt, seinen Farbstoff verloren. Derselbe war ihm jedenfalls nach und nach von den Zellwänden entzogen worden.

Eine Verarbeitung der eingeführten Fettsäuren habe ich nicht nachweisen können. Dienten zu den Versuchen Pflanzen, welche nach dem vollständigen Aushungern so lange im Dunkeln gehalten waren, bis sie keine Wachsthumszunahme mehr erkennen liessen, so fand eine solche auch nicht statt, wenn die Pflanzen nach Einführung der Oelsäure weiter im Dunkeln verblieben. Ebenso wenig trat in denselben jemals Stärke oder Zucker auf.

Die künstliche Einführung von Fetten in lebende Zellen beweist jedenfalls, dass Zellhaut und Plasmahaut unter gewissen Bedingungen für Fette permeabel sind. Für die Art und Weise der Aufnahme sind dagegen verschiedene Möglichkeiten gegeben, für deren geringere oder grössere Wahrscheinlichkeit sich durch Vergleich der gemachten Beobachtungen einige Schlüsse ergeben. Diese werden wohl auch für die Aufnahme der Fette durch die Pilzmycelien gelten können, und auch wegen der Aehnlichkeit der gegebenen Bedingungen von einiger Bedeutung für die, bei der Keimung ölhaltiger Samen vorkommende Oelwanderung sein.

Bei der Einführung der Oelsäure in die Zellen der Keimlinge fand die Aufnahme wohl nur von den Intercellularen aus statt, welche mit dem Fette stark erfüllt sind. Allerdings findet man im vierten oder fünften Internodium über dem angeschittenen zuweilen Partieen, in denen die Zellen ebenfalls reichlich Oelsäure enthalten, doch solche in den Intercellularen nicht mehr vorhanden ist. Es liess sich jedoch nicht nachweisen, ob hier etwa auch eine Wanderung des Fettes von Zelle zu Zelle stattgefunden, was ja möglich wäre, doch nicht wahrscheinlich, da für dieselbe die nöthige Ursache, nämlich die Verarbeitung zu fehlen scheint.

Ueber die Aufnahme der Fette in die Zellen entscheidet die Zellhaut. Die Plasmahaut ist für Fette leicht permeabel, und zwar sowohl für freie Fettsäuren, als auch für Neutralfette, welche letztere von den Zellen nicht aufgenommen wurden. Die Permeabilität der Plasmahaut für Neutralfett wies Pfeffer an Myxomyceten-Plasmodien nach, indem er gefärbtes Fett in feiner Vertheilung, das er durch Schütteln von Milch mit Alcannatinctur erhielt, sowie auch grössere Oeltropfen von denselben aufnehmen liess, wobei es gefärbt in die Plasmodien eindrang und theilweise ebenso wieder ausgestossen werden konnte. Ein gleiches zeigen auch die angeführten, mit trocknen Moosen angestellten Versuche. Bei denselben ging das Oel ohne Schwierigkeit durch die trockene Zellwand hindurch.

Das, zwischen Zellwand und Plasma befindliche Fett wurde dann beim Einlegen der Moose in Wasser von dem Plasma aufgenommen, und zwar sowohl, wenn es aus Neutralfett, als auch, wenn es aus freier Oelsäure bestand. Der Durchgang durch die Plasmahaut geschieht hier jedenfalls in der Weise, dass das Fett, wie ein fester Körper durch dieselbe hindurch gepresst wird, indem es dabei die Micellen derselben auseinander drängt [1]). Das Oel steht ja hier unter einem gewissen Druck, indem der Plasmakörper im Wasser seinen Turgor wiedererlangt und nun das in der Zelle befindliche Fett gegen die Zellwand presst. Da letztere aber ebenfalls Wasser imbibirt hat, so kann das Fett nicht so leicht aus der Zelle herausgepresst werden, als es durch die trockene Zellhaut in dieselbe eindrang.

Bei der Aufnahme der Fette in die Zellen der Keimlinge spielt das Plasma aber immerhin eine nicht unbedeutende Rolle, doch nur in dem Sinne, dass es die Menge des eindringenden Fettes zu bestimmen scheint. So finden wir, dass die Markzellen, welche nur einen sehr dünnen Wandbelag von Plasma enthalten, das überdies die geringste Störung zeigt, nur da Fett enthalten, wo solches in grosser Menge geboten ist, also in der Nähe der Einführungsstelle, und auch hier nur in sehr geringer Menge. Man sollte meinen, dass das Plasma das eingedrungene Fett in solchem Falle in die grosse, fast das ganze Zellinnere ausfüllende Vacuole hineinstossen würde. Indessen habe ich in den Vacuolen der Markzellen keine Oeltröpfchen nachweisen können. Letztere finden sich im Zellsaft nur zuweilen in den sehr stark mit Fett erfüllten Parenchymzellen. Diese besitzen ja den relativ mächtigsten Plasmakörper, der eine lebhafte Strömung zeigt. Ausserdem wird das Parenchym auch durch sein stark entwickeltes Intercellularsystem in der Fettaufnahme unterstützt. Am meisten aber tritt das Fett in den Epidermiszellen und in denen, der dicht unter der Epidermis liegenden Zellschichten auf. Für diese wies De Vries [2]) auch die stärkste Plasmabewegung nach, so dass letztere vielleicht für die Aufnahme des Fettes vortheilhaft ist, indem sie es nach seinem Durchgang durch die Plasmahaut im Plasmakörper vertheilt. Möglich ist es auch, dass nur die Mächtigkeit des Plasmakörpers bestimmend wirkt.

Somit ist es auch verständlich, dass in den entfernteren Theilen der Pflanzen, sowie bei Einführung von nur wenig Fett, diese Zellen fast ausschliesslich dasselbe aufgenommen haben. Hier erfolgte das Eindringen schneller und demzufolge musste auch eine Strömung des Fettes in den Intercellularen nach diesen Gewebeschichten hin stattfinden.

---

1) Pfeffer, Osmotische Untersuchungen 1877. pg. 154.

2) De Vries, Ueber die Bedeutung der Circulation und Rotation des Protoplasma für den Stofftransport in der Pflanze. Bot.-Zeitg. 1885.

Während trockene Zellhäute Fetten einen Imbibitionsdurchgang gestatten, wie dies aus der Färbung der, in die todten, aber nicht verletzten Zellen von Moosblättern eingedrungenen Fette hervorgeht, gilt dies nicht so für wasserdurchtränkte Membranen. Für thierische Häute ist bekannt, dass man Oele nur unter sehr starkem Druck durch dieselben pressen kann. Auch für pflanzliche Membranen gilt dasselbe, und zwar, wie ich mich überzeugte, genau ebenso für freie Oelsäure, wie für Neutralfette. — Leider konnte ich wegen Mangel an Apparaten den dazu nöthigen Druck nicht ermitteln. Ich spannte künstliche Cellulosemembranen über eine abgeschliffene Glasröhre, die ich andererseits mit einem Gummischlauche verband. Unter die Membran wurden einige Tropfen der Fette gebracht, dann eine kurze Wassersäule und der übrige Theil der Röhre, sowie der Gummischlauch mit Quecksilber gefüllt. Durch beliebiges Heben und Senken des Schlauches konnte man dann mit stärkerem oder geringerem Druck das Fett gegen die Cellulosehaut pressen. Allerdings konnte ich bei Anwendung letzterer den Druck nicht über 200 mm Quecksilber steigern, da dieselbe dann platzte. Doch ging bei diesem Druck weder Oelsäure noch Leinölsäure noch ihre Triglyceride oder Gemische letzterer mit den freien Säuren, selbst bei 8 Tage langer Berührung, hindurch, sobald nur durch eine, über die Membran gestürzte feuchte Kammer ein Austrocknen derselben verhindert wurde. — Wandte ich Pergamentpapier statt der Cellulosehäute an, so konnte ich den Druck mit demselben Resultate bis zu 1200 mm Quecksilber steigern. Einen grösseren Druck konnte ich auch hier nicht anwenden, da die das Quecksilber enthaltenden Gummischläuche platzten, und ich andere Apparate hätte verwenden müssen, welche mir zur Zeit dieser Versuche nicht zur Verfügung standen. Immerhin zeigen letztere aber, die sehr wichtige Thatsache, dass sich die freien Fettsäuren, ebenso, wie die Neutralfette, nur unter Anwendung sehr starker Druckkräfte durch wasserdurchtränkte Membranen hindurchpressen lassen. Es folgt daraus weiterhin, dass lebende Zellhäute besondere Eigenschaften besitzen müssen, vermöge welcher den Fetten der Durchgang durch dieselben ermöglicht ist. Letzterer ist aller Wahrscheinlichkeit nach kein Imbibitions-Durchgang.

Eine andere Frage ist es freilich, ob nicht Oelsäure, doch in minimaler Menge in Wasser oder in der Zellflüssigkeit löslich ist, und wie dies bei der Speicherung von Farbstoffen bekannt ist, welche selbst bei Lösungen von 1 : 10 Millionen noch stattfindet[1]), kann, unter sonst gegebenen Bedingungen, auch die geringste Löslichkeit zu einer Anhäufung in Zellen führen. Es würde indessen dann schwierig sein, zu erklären, wie die Neutralfette durch die Mitwirkung der freien Säuren in die Zellen hineingeschafft wurden. —

1) Pfeffer, Ueber die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. (Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen. Bd. II. 1886.

Eine Mitwirkung des Plasmakörpers durch ausgeschiedene Sekrete erscheint zweifelhaft, da in den Intercellularen befindliche feste Fettsäuren nicht von den Zellen aufgenommen wurden, während sie im geschmolzenen Zustande leicht Eingang fanden, wie dies aus den Versuchen mit Cacaobutter und Palmitinsäure hervorgeht. Bei den Pilzen findet dagegen eine derartige Aufnahme der festen Fette statt. — Auf die, wenn überhaupt vorhanden, wenigstens minimale Spaltung der, in den Intercellularen befindlichen Neutralfette wurde schon oben hingewiesen. Thatsächlich existiren ja fettspaltende Fermente in den Zellen der Keimlinge ölhaltiger Samen [1]); doch scheint es eben fraglich, ob diese, wie bei den Pilzen von den Zellen ausgeschieden werden. —

Berücksichtigen wir nun, dass reine Neutralfette nicht in die Zellen eindringen, freie Säuren aber leicht, und durch ihre Mitwirkung auch Neutralfette in die Zellen hineinschafft werden, das Vorhandensein freier Säure also für die Aufnahme der Fette in lebende Zellen unerlässlich ist; erwägen wir weiter, dass todte, wasserdurchtränkte Membranen für die freien Säuren ebenso impermeabel sind, wie für Neutralfette, so erhellt daraus, dass die Aufnahme der Fette in lebende Zellen durch eine Wechselwirkung zwischen der lebenden Zellhaut und den freien Fettsäuren bedingt ist. — Die beobachteten Erscheinungen sprechen am meisten dafür, dass hier die Bildung löslicher, seifenartiger Fettsäure-Verbindungen in Betracht kommt, welche höchst wahrscheinlich von einer theilweisen Emulgierung des Fettes begleitet ist.

Die Bildung wasserlöslicher Fettsäure-Verbindungen, und eine dadurch hervorgerufene Emulgirung von Fetten, welche freie Säuren enthalten, ist für verschiedene Körper bekannt. Diese Erscheinungen wurden zuerst mit einer Lösung von Natriumcarbonat von Gad[2]) beobachtet, dann bei Lösungen von Natriumcarbonat, Natriumphophat, sowie bei Hühnereiweiss von Quincke[3]) näher, besonders in physikalischer Beziehung, untersucht. — Pacht[4]) zeigte weiter, dass auch concentrirte Zuckerlösungen, und zwar solche von Rohrzucker und Maltose in höherem Maasse als von Glykose Fette zu lösen im Stande sind. Diese Fähigkeit wird schon durch einen sehr geringen Gehalt der Fette an freien Säuren beträchtlich erhöht. Ausserdem findet mit der Lösung zugleich starke Emulsionsbildung statt. Ausser den genannten Körpern wird es sicher aber noch eine ganze Reihe anderer geben, welche zur Bildung analoger Verbindungen befähigt sind.

---

1) Sigmund, Monatshefte für Chemie 11. 272—276. 1890.

2) Joh. Gad, Archiv f. Anatomie u. Physiologie 1878. pg. 181 ff.

3) Quincke, Pflügers Archiv 1879. pg. 136. — Dgl. Poggd. Annalen d. Chem. u. Phys. N. F. 35. pg. 594 ff. 1888.

4) Pacht, Untersuchungen über d. Verhalten der Fette zur Zuckersolutionen. Inaug.-Dissert. Dorpat 1888. Ref.: Centralbl. f. Physiologie 1889. pg. 688.

Es ist nun die Frage, ob das in die Zellen eingedrungene Fett als solches in emulgirter Form die Zellwand passirt hat, oder nur als lösliche Seife in die Zellen eingedrungen ist, welche dort unter Regeneration des Fettes wieder zersetzt wurde. Für letzteren Vorgang würde es sprechen, wenn bei Anwendung eines Gemenges von Neutralfett und freier Säure, das in den Zellen vorhandene Oel nur aus freier Säure bestehen würde. In diesem Falle würde dann nur die freie Säure in Form einer Seife in die Zellen eingedrungen sein, während das Neutralfett in den Intercellularen zurückblieb, weil es nicht zur Bildung einer solchen Verbindung befähigt ist. Von mikrochemischen Reactionen lassen sich zur Unterscheidung eines Gemenges von Neutralfett und freier Säure von letzterer, nur Lösungsverhältnisse verwenden. Ich verglich daher die Löslichkeit der, aus einem Gemisch von Neutralfett mit 10% freier Säure in die Zellen aufgenommener Fetttropfen mit gleichfalls in die Zellen eingedrungener reiner Oelsäure in ihrem Verhalten gegen Eisessig, Chloralhydratlösung (5:2) und Alcohol in verschiedenen Concentrationen. Sind nun auch Neutralfette, besonders bei Gegenwart freier Säuren in diesen Lösungsmitteln ebenfalls löslich, so glaube ich doch aus der anscheinend schwierigeren Löslichkeit schliessen zu dürfen, dass aus einem Gemenge von Neutralfett mit freier Säure nicht nur letztere allein in die Zellen eindringt, sondern die in letzteren befindlichen Fetttropfen ebenfalls Gemenge von Neutralfett mit freier Säure bilden. Mehr noch als durch das Verhalten der Tropfen gegen Lösungsmittel wird dies durch folgende Beobachtung bewiesen. Bei den Versuchen mit Palmitinsäure, war diese zur Erniedrigung des Schmelzpunktes mit entsäuertem Mandelöl zusammengeschmolzen. Blieben die Versuchspflanzen zwei Tage lang im Brütofen bei 38°, so drang das bei dieser Temperatur flüssig bleibende Fettgemisch in reichlicher Menge in die Zellen ein, in denen es beim Abkühlen der Pflanzen auf gewöhnliche Temperatur erstarrte. — Die in den Zellen befindlichen Fetttropfen hatten dann kein klares, sondern ein mehr granulirtes Aussehen. Beim vorsichtigen Erwärmen der Schnitte im Luftbade auf 40° schmolzen sie dagegen wieder und waren dann durch 40° warmes concentrirtes Glycerin zum Zusammenlaufen zu bringen. Ihr Schmelzpunkt lag also unterhalb 40°, während die angewandte Palmitinsäure bei 62° schmolz. — Mögen nun auch die in der lebenden Zelle thätigen Molecularkräfte im Stande sein, den Schmelzpunkt von Körpern zu erniedrigen, so durfte doch dies nicht mehr stattfinden, wie es thatsächlich der Fall war, nachdem das Plasma durch Glycerin, Pikrinsäure oder andere Mittel getödtet worden. Wir können also daraus schliessen, dass das in die Zellen eingedrungene Fett ein Gemenge von Palmitinsäure mit Mandelöl war. Da nun letzteres allein in Parallel-Versuchen nicht in die Zellen eindrang, so lässt sich daraus folgern, dass es durch die Palmitinsäure und zwar in Form einer Emulsion in die lebenden Zellen hineingeschafft

wurde. — Dasselbe folgt auch aus den Versuchen, bei denen eine Aufnahme von Cacaobutter durch die Mitwirkung freier Oelsäure erzielt wurde. Diese letzteren Versuche zeigen auch, dass eine, durch Oberflächenspannung in den mikroskopisch kleinen Fetttröpfchen, bewirkte Aenderung das Schmelzpunktes nur einen sehr geringen Werth erreichen kann.

Für einen Durchgang des Fettes als Emulsion durch die Zellhaut spricht auch das Vorkommen von Oeltropfen zwischen dieser und dem Plasma, da doch nur in letzterem die Zersetzung der Seifen wird vor sich gehen können, und die dabei gebildeten Oeltropfen dann erst wieder von dem Plasmakörper ausgestossen worden wären.

Für thierische Häute ist seit langer Zeit bekannt [1]), dass eine Durchtränkung derselben mit Galle oder Seifen diese für Fette durchdringbar macht, indem dadurch die Capillarattraction für Fette gesteigert wird. — Im thierischen Organismus findet auch thatsächlich die Absorption der Fette in dieser Weise statt, da die Darmschleimhaut von der Einmündungsstelle des Gallenganges an, eine Strecke weit mit Galle durchtränkt ist [2]). — Welcher Körper nun in den Cellulosemembranen der Pflanzen die Rolle der Galle übernehmen könnte, lässt sich zur Zeit nicht angeben. Er befindet sich aber in jeder Cellulosemembran, auch wenn dieselbe in der Pflanze nicht von Fetten durchwandert wird, da ich keine lebende Zelle gefunden, welche nicht zur Aufnahme von Fetten unter den angeführten Bedingungen befähigt gewesen wäre. — Vielleicht spielen die in jeder Zellwand befindlichen organischen Kalkverbindungen [3]) eine Rolle; doch ist es auch nicht ausgeschlossen, dass etwa die Cellulose selbst oder Umwandlungsproducte derselben massgebend sind. Dagegen glaube ich nicht, dass Bestandtheile des Plasmakörpers, vielleicht mit Ausnahme von fettspaltenden Secreten, in Betracht kommen, da nicht dieser, sondern allein die Zellhaut über die Aufnahme der Fette entscheidet.

Der Umstand, dass gefärbtes, in die Intercellularen gebrachtes Fett nicht gefärbt in die Zellen aufgenommen wird, kann nicht als Beweis gegen eine Aufnahme als Emulsion gelten, während allerdings das umgekehrte Verhalten als sicherer Beweis für ein mechanisches Eindringen angesehen werden könnte. — Ist die Zellwand trocken, so findet ein Imbibitions-Durchgang [4]) des Fettes statt und letzteres nimmt den Farbstoff mit in die Zellen hinein, wie wir dies bei den Versuchen mit den Moosblättern gesehen haben. Ist dagegen die Zellhaut mit Wasser durchtränkt, so wird der Farbstoff von den Wänden zurückgehalten, wie sich dies auch in manchen Fällen durch eine deutliche Färbung der Zellwände

1) A. v. Wistinghausen, Experimenta quaedam endosmotica de bilis in absorptione adipum neutralium partibus. Dissert. Dorpat 1851.

2) Hermann, Handbuch d. Physiologie V. 2. pg. 290.

3) Pfeffer, Pflanzenphysiologie 1881. I. pg. 259.

4) Pfeffer, Osmotische Untersuchungen 1877. pg. 35 ff.

zu erkennen giebt. — Es geschieht dies nicht, weil die intermicellaren Zwischenräume zu klein wären, um den Farbstoffmolekülen den Durchgang zu gestatten; denn in alcoholischer, mit Wasser verdünnter, Lösung gehen dieselben leicht hindurch; sondern deshalb, weil die Anziehungskraft der die Zellwand constituirenden Micellen den Farbstoff festhält. Gleiche Erscheinungen sind hinlänglich bekannt beim Aufsaugen verschiedener Farbstofflösungen in Fliesspapier.

Durch Vergleich aller angeführten Thatsachen glaube ich zu dem Resultate kommen zu müssen, dass die Aufnahme der Fette in lebende Pflanzenzellen in gleicher Weise vor sich geht, wie dies im thierischen Organismus geschieht, also indem die freie Säure zur Bildung seifenartiger Verbindungen dient, welche einerseits eine Emulgirung des Fettes bewirken, andererseits, indem sie die Cellulosehaut durchtränken, diese für das emulgirte Fett permeabel machen. — Ein gleiches wird dann auch für die Aufnahme der Fette in die Pilzzellen gelten müssen. — Bei ihnen kommt dann aber noch die Fähigkeit hinzu, die ausserhalb der Zellen befindlichen Neutral-Fette zu spalten, sowie auch die Aufnahme fester Fette zu bewirken. Wahrscheinlich geschieht dies durch ausgeschiedene Fermente, da andere Fermente häufig bei Pilzen vorkommen, und Keimlinge ölhaltiger Samen, welche im Plasma befindliche Neutral-Fette spalten können, dies doch nicht mit den in den Intercellularen befindlichen Fetten vermögen.

Untersuchungen über die Keimung ölhaltiger Samen.

Ueber die, bei der Keimung ölhaltiger Samen, sich abspielenden Processe verdanken wir die erste Aufklärung den bahnbrechenden Arbeiten von Sachs[1]). Ausser ihm hat nur noch Peters[2]) Rücksicht auf die Stoffwanderung genommen, während alle anderen, in dieser Hinsicht geführten Untersuchungen, so die von Saussure[3]), Letellier[4]), Hellriegel[5]), Detmer[6]), Laskowsky[7]), Fleury[8]) und

1) J. Sachs, Ueber das Auftreten der Stärke bei der Keimung ölhaltiger Samen. Bot. Zeitg. 1859. pg. 177. — J. Sachs, Ueber die Stoffe, welche das Material zum Wachsthum der Zellhäute liefern. Pringsheim's Jahrb. f. wiss Bot. 1863. III. pg. 183 ff. J. Sachs, Ueber das Keimen des Sames von Allium Cepa. Bot. Zeitg. 1863 pg. 57. u. a.

2) E. Peters, Zur Keimungeschichte des Kürbissames. Landwirthschaftl. Versuchsstationen 1861. III. pg. 1.

3) Saussure, Frorieps Notizen XXV. No. 16.

4) Letellier, Journal f. praktische Chemie I. pg. 94. 1855.

5) Hellriegel, Zur Keimungsgeschichte der ölgebenden Samen. Journal f. prakt. Chemie. LXIV. pg. 94. 1855.

6) Detmer, Phys.-chem. Untersuchung über die Keimung ölhaltiger Samen. 1875.

7) N. Laskowsky, Ueber einige chemische Vorgänge bei der Keimung des Kürbissamen. Landwirthschaftl. Versuchsstationen 1874. XVII. pg. 219.

8) G. Fleury, Recherches chimiques sur la germination. Annales de chimie et de physique sèr. IV. t. IV. pg. 38. 1865.

Müntz[1]) sich lediglich mit der Umwandlung des Oeles in andere Stoffe beschäftigen, ohne Rücksicht darauf zu nehmen, in welchen Organen diese Umwandlungen vor sich gehen.

Seit den Untersuchungen von Sachs sind in dieser Hinsicht keine weiteren Arbeiten ausgeführt worden. Es schien mir daher nöthig, dieselben in der von Sachs geführten Weise auf weitere Samen auszudehnen, welche den verschiedensten Familien angehören. Zugleich waren besonders solche Samen zu berücksichtigen, deren Oele in Betreff ihrer chemischen Zusammensetzung bedeutendere Verschiedenheiten aufweisen. Da indessen die mikroskopischen Beobachtungen der Keimungsvorgänge keine wesentlich neue Art der Entwickelung kennen lehrten, sondern die untersuchten Samen im Grossen und Ganzen einem, der von Sachs angeführten Beispiele folgten, so kann ich mich hier darauf beschränken, nur eine kurze Uebersicht über die erhaltenen Resultate zu geben.

Im allgemeinen lassen sich Beziehungen nicht verkennen, welche zwischen der chemischen Zusammensetzung der Reserve-Oele und der Umwandlung letzterer während des Keimungsprocesses bestehen. — Die weitere Verfolgung dieser Beziehungen, sowie der exakte Beweis derselben wird allerdings nicht eher möglich sein, ehe wir nicht eine genaue Kenntniss der chemischen Zusammensetzung der Reserve-Fette besitzen. Da dies bis heute nicht der Fall ist, so kann auch ich nur einen allgemeinen Hinweis auf, in die Augen springende, Analogieen geben. — Aus dem Grunde wurde auch bisher auf die Zusammensetzung der Fette keinerlei Rücksicht genommen, sondern überall die durch Aether oder Petroleumäther aus den Pflanzen extrahirten Rohfette als gleichwerthig betrachtet.

Im Grossen und Ganzen sind die Fette Gemenge von Triglyceriden der verschiedensten Fettsäuren, welche stets eine geringe Menge freier Säuren beigemengt enthalten. Andere Körper finden sich nur ausnahmsweise in geringen Mengen in den Fetten und kommen für unseren Fall nicht in Betracht. Der chemische Charakter der Fette wird also hauptsächlich durch die Verschiedenartigkeit der aus ihnen abzuscheidenden Fettsäure-Gemenge bedingt. — Man isolirt letztere, indem man das Fett mit Kalilauge verseift, und nach Zersetzung der gebildeten Seife mittelst verdünter Schwefelsäure, die freigemachten Fettsäuren mit Aether ausschüttelt. Die genaue Zusammensetzung der auf diese Weise aus einem Fette zu erhaltenden Fettsäure-Gemenge, kennen wir fast noch in keinem Falle, da eine Trennung der Säuren von einander ausserordentliche Schwierigkeiten bietet. Dagegen sind wir im Stande, die Anwesenheit dieser oder jener Säure in einem Fette nachzuweisen, und aus einigen allgemeinen Reactionen Schlüsse auf das ungefähre Verhältniss zu ziehen,

1) Müntz, Sur la germination des graines oléagineuses. Ann. de chim. et de phys. 1871. sér. IV. t. XXII. pg. 372.

in dem die Glieder der einzelnen Säuregruppen zu einander in einem Fette vorhanden sind.

Abgesehen von einigen Säuren, welche nur in einzelnen Oelen vorkommen, z. B. die Ricinolsäure $C_{18}H_{32}OHCOOH$ im Ricinusöl, oder äusserst geringe Beimengungen in anderen Oelen bilden, gehören die Fettsäuren hauptsächlich drei Gruppen an. Es sind dies die festen Fettsäuren von der Zusammensetzung $C_nH_{2n}O_2$, die Säuren der Oelsäure-Reihe $C_nH_{2n-2}O_2$ und die, der Leinölsäure-Reihe $C_nH_{2n-4}O_2$. Von den Säuren der ersten Gruppe kommen für uns nur die in Wasser unlöslichen Glieder in Betracht, und von diesen kommen auch nur diejenigen in grösserer Menge in natürlichen Fetten vor, bei denen der Werth für n eine gerade Zahl ist. Es sind dies die Laurinsäure $C_{12}H_{24}O_2$, die Myristinsäure $C_{14}H_{28}O_2$, die Palmitinsäure $C_{16}H_{32}O_2$, die Stearinsäure $C_{18}H_{36}O_2$ und die Arachinsäure $C_{20}H_{40}O_2$, während die höheren Glieder der Reihe fast nur in solchen Fetten vorkommen, welche als Secrete zu betrachten sind, dagegen höchsten als Spuren in Reserve-Fetten. — Von den Säuren der Oelsäure-Reihe sind zu beachten die Hypogäasäure $C_{16}H_{30}O_2$, die Oelsäure $C_{18}H_{32}O_2$ und die Brassica- oder Erucasäure $C_{22}H_{42}O_2$. Aus der dritten Gruppe endlich kommt nur die Leinölsäure $C_{16}H_{28}O_2$ in Betracht, da ein anderes Glied der Reihe, die Eläomargarinsäure bisher nur im Fett der Samen von *Elaeococca vernicia* nachgewiesen ist.

Ein brauchbares Kriterium für die ungefähre Zusammensetzung der Fette giebt uns die Fähigkeit der ungesättigten Fettsäuren von der Zusammensetzung $C_nH_{2n-2}O_2$ und $C_nH_{2n-4}O_2$ bei Behandlung mit Jod sich mit diesem zu verbinden, während die Fettsäuren der Reihe $C_nH_{2n}O_2$ nicht mit Jod reagieren. Diejenige Menge Jod, welche 100 Theile der Säure addieren, bezeichnet man als die Jodzahl derselben. Dieselbe beträgt für Hypogäasäure 100,00 für Oelsäure 90,07, für Erucasäure 75,15, für Leinölsäure 201,56. Man bestimmt dieselbe nach v. Hübl[1]), indem man 0,2—0,5 gr der Säure in 10 ccm Chloroform löst und dann 25—50 ccm einer Jodlösung zugiebt, welche 25 gr Jod und 30 gr Merkurichlorid auf 1 Liter 96% Alcohols enthält. Nach zweistündiger Einwirkung setzt man 10—20 ccm einer 10% Jodkaliumlösung, sowie 150 ccm Wasser zu und titrirt das überschüssige Jod mit $^1/_{10}$ normal Natriumthiosulfatlösung zurück. Da jedoch die Jodlösung ihren Titer fortwährend ändert, so muss der Werth einer gleich behandelten Jodlösung jedesmal gleichzeitig ermittelt werden. Die Berechnung ist dann einfach, da jeder ccm $^1/_{10}$ Natriumthiosulfatlösung 0,0127 gr Jod entspricht.

Ebenso, wie mit Jod verbinden sich die diejenigen Säuren, welche eine oder zwei ungesättigte Bindungen enthalten, auch mit Sauerstoff. Besonders geschieht dies bei der Leinölsäure, welche dabei in feste, harzige

1) Dingler's polytechn. Journal 253. pg. 281.

Körper übergeht. Da auch die Oele, welche Leinölsäure in grösserer Menge enthalten, das gleiche Verhalten zeigen, so unterscheidet man sie als trocknende Oele von den übrigen.

Die Samen lassen sich zunächst als solche mit oder ohne Endosperm unterscheiden. Schon Sachs wies nach, dass das Reserveöl des Endosperms von den Cotyledonen aufgesogen wird. Diesen Vorgang beobachtete ich auch bei allen weiteren Samen. In keinem Falle findet dabei nachweisbare Bildung von Stärke oder Zucker statt. Die schon von Sachs angegebenen Ausnahmen bei *Ricinus communis* und *Pinus Pinea* sind durch das an der Basis des Endosperms beider Samen stattfindende starke Wachsthum erklärt. Stärke und Zucker scheinen hier, wenn überhaupt, so doch nicht ausschliesslich den Uebergang des Reserveöles aus dem Endosperm in die Cotyledonen zu vermitteln, da ihr Vorkommen während der Hauptperiode der Entwickelung der Keimlinge auf die Basis des Endosperms beschränkt bleibt. Während in den ganzen Cotyledonen, auch an der Spitze, von Anfang an eine sehr lebhafte Umsetzung von Oel in Stärke stattfindet, also auch da, wo das angrenzende Endosperm nicht wächst, lassen sie in diesem niemals Stärke oder Zucker erkennen; sondern das Oel wird wahrscheinlich als solches von den Epidermiszellen der Cotyledonen aufsogen. Letztere Zellen enthalten selbst in den Fällen, wo die Umwandlung des Oeles in Stärke schon in den Cotyledonen vor sich geht, niemals Stärke oder Zucker, sondern stets nur Oel. Es ist dies allerdings nicht direkt beweisend, da Sachs auch bei den Gramineen[1]) in den Epidermiszellen des Schildchens weder Zucker noch Stärke nachweisen konnte, obwohl die Stärke des Endosperms diese Zellen in irgend einer Form passieren muss, um in die Keimpflanze zu gelangen. — Auf diesen Vorgang der Aufsaugung des Oeles aus dem Endosperm ist die Zusammensetzung des Oeles ohne Einfluss; denn derselbe findet sich gleichmässig bei den Samen deren Oel vorwiegend durch die Fettsäureglyceride der einen oder anderen Gruppe gebildet wird. So fand ich ihn nicht nur bei den Samen mit trocknenden Oelen von *Cannabis sativa*, *Paparer somniferum*, *Linum usitatissimum*, *Allium sativum*, sondern auch bei denen mit nicht trocknenden, so bei *Nigella sativa*, *Pinus silvestris*, *Coriandrum sativum* und anderen.

Ebenso ist für das fernere Verhalten des Oeles bei der Keimung keinerlei Unterschied, ob dasselbe aus dem Endosperm aufgesogen worden ist, oder in endospermlosen Samen ursprünglich in den Cotyledonen aufgespeichert war. — Für die weitere Verarbeitung des Reserveöls unterschied schon Sachs Oelwanderung und Stärkewanderung, je nachdem dasselbe erst an dem Orte seines Verbrauchs oder schon in den Cotyledonen in andere Stoffe, besonders Stärke umgesetzt wird und dann als

1) J. Sachs, Zur Keimungsgeschichte der Gräser. Bot. Zeitg. 1862. pg. 145.

solche nach den in Neubildung begriffenen Organen hinwandert. Letzteren Vorgang beobachtete ich bei folgenden Samen: *Nigella sativa*, *Coriandrum sativum*, *Pinus silvestris*, *Cucurbita Pepo*, *Raphanus oleiferus*, *Cochlearia officinalis*, *Amygdalus communis*, *Arachis hypogaea*, *Gossypium herbaceum*, ferner auch bei *Pinus Pinea* und *Ricinus communis*. Sie alle folgen genau demselben Entwickelungsgang. Sobald das Würzelchen sich zu strecken beginnt, wird das in ihm enthaltene Oel zum grossen Theil in Stärke umgesetzt, welche das ganze Gewebe erfüllt. Zugleich tritt aber auch schon an der Basis der Cotyledonen Stärke im Parenchym auf. Die, die Gefässbündel der Cotyledonen umgebende Stärkescheide füllt sich dann bald bis zur Spitze mit Stärke, während die Stärkebildung im Parenchym der Cotyledonen langsam von der Basis nach der Spitze fortschreitet. Wenn die Wurzel ausgebildet ist, und Hypocotyl sich zu strecken beginnt, ist die Stärkebildung meist bis zum unteren Dritttheil der Cotyledonen vorgeschritten. In den sich streckenden Organen verschwindet die Stärke allmählig von unten nach oben zu, indem dabei im Parenchym der Streckungszone Zucker auftritt. Erst, wenn das Hypocotyl seine Streckung beendet hat, verschwindet auch die Stärke aus den Cotyledonen. Nach beendeter Ausbildung des Hypocotyl und der Wurzel enthält das Parenchym derselben weder Stärke noch Zucker. Dagegen führt die Stärkescheide noch eine Zeit lang Stärke, welche erst später, in der Wurzel schon theilweise während der Ausbildung des Hypocotyl, unter Auftreten von Zucker von unten nach oben forschreitend verschwindet. — In keinem Falle lässt sich aber dabei ein Uebergang des Zuckers in das umgebende Parenchym nachweisen, so dass es den Anschein hat, als ob die Stärke der Scheide weniger dem Stofftransport gedient, als vielmehr zur Ausbildung der Gefässbündel verwandt werde.

Während der ganzen Keimung führt sowohl das Parenchym der Wurzel, wie auch das Hypocotyl stets noch eine geringe Menge Oel. Dies ist auch noch nach vollendeter Streckung der Organe und nach dem Verbrauch der Stärke vorhanden und verschwindet erst in späteren Stadien, ohne dass dabei Stärke oder Zucker gebildet würde. Dies Oel ist nun in den meisten Fällen nicht durch Wanderung aus den Cotyledonen in die betreffenden Organe gelangt, sondern es ist der Rest, des in den Zellen der Wurzelanlage des Embryo vorhanden gewesenen Oeles, welches bei Beginn der Entwickelung nicht vollständig in Stärke umgesetzt worden war. — Ist aber Stärke und Oel zugleich in einem Gewebe vorhanden, so scheint die Stärke zuerst verbraucht zu werden, und da die Stärkezufuhr aus den Cotyledonen stark genug ist, um dem Bedürfniss der sich streckenden Theile zu genügen, so bleibt das Oel bis zuletzt in den Zellen liegen, und verschwindet erst allmählig, wenn keine Stärke mehr vorhanden ist. Sehr schön zeigt sich dieser Vorgang bei der Keimung von *Mirabilis Jalapa*. Die Samen dieser Pflanze besitzen einen

sehr grossen Embryo, dessen Cotyledonen ein kleines Endosperm handförmig umfassen. Letzteres enthält nur Stärke, während der Embryo weder im Würzelchen, noch in den Cotyledonen Stärke, sondern nur Oel enthält. Bei Beginn der Keimung füllt sich nun der ganze Embryo bald mit Stärke, welche auch bis zur Streckung verbleibt. Ist letztere beendet, so ist auch das ganze Endosperm verbraucht und die Stärke aus dem Parenchym der Keimpflanze verschwunden. Dagegen enthalten die Parenchymzellen jetzt noch reichlich Oel, das erst verbraucht wird, wenn keine Stärke mehr vorhanden ist. Das ursprünglich im Embryro abgelagerte Oel ist also hier, wenigstens zum grossen Theil, solange in den Zellen verblieben, bis alle Stärke des Endosperms von den Cotyledonen aufgesogen, und nachdem sie den wachsenden Organen zugeführt worden, von diesen verbraucht worden war. Zwar liesse sich der Vorgang auch in der Weise erklären, dass die Stärke ihrerseits theilweise in Oel umgesetzt sei; doch hat diese Deutung wenig Wahrscheinlichkeit für sich, da eine Umwandlung von Stärke in Oel zwar beim Reifen ölhaltiger Samen stattfindet, dagegen noch in keinem Falle bei der Keimung stärkehaltiger Samen beobachtet ist.

Die Menge des Oeles, das sich während des Keimungsprocesses in den wachsenden Organen befindet, nimmt, wie man schon durch die mikroskopische Beobachtung wahrnehmen kann, zuerst schnell, dann sehr langsam ab. Eine Ausnahme macht nur *Arachis hypogaea,* das ebenso, wie auch *Gossypium herbaceum* im Samen neben dem Oel Stärke enthält. Bei Beginn der Keimung findet nun bei *Arachis* starke Vermehrung der Stärke in allen Theilen des Sames statt. Dagegen führen aber die Zellen immer noch auffallend viel Oel, besonders im Hypocotyl, das auch hier bis nach dem Verbrauch der Stärke verblieb, und sich sogar zu vermehren schien. Ich bestimmte deshalb die Fettmenge, welche die Keimlinge in verschiedenen Entwickelungsstadien enthalten. Dieselbe betrug in 100 Wurzelanlagen der Samen, die sich leicht herauslösen lassen, 0,483 gr nach Streckung der Wurzeln verblieben 0,346 gr, nach Streckung des Hypocotyl 0,353 gr und in einem späteren Stadium 0,262 gr. Diese Zahlen beweisen, dass bei *Arachis* neben der Stärkewanderung Oelwanderung stattfindet. Eine bedeutendere Zunahme des Fettes ist dabei nicht zu erwarten, da dies meist in dem Maasse verbraucht wird, als es zuwandert. Dasselbe finden wir auch bei Samen mit ausgesprochener Oelwanderung. So enthielten z. B. 100 Keimlinge von *Helianthus annuus*, in einem Entwickelungsstadium, wo die Wurzel ihre Streckung fast beendet hatte und das Hypocotyl 10 mm lang war, 0,340 gr Fett, während die Menge desselben bei einer Länge des Hypocotyl von 40 mm 0,360 gr betrug. — Sachs nimmt auch für *Cucurbita Pepo, Amygdalus communis* und *Ricinus communis* Oelwanderung an. Bei diesen Samen ist die Menge des Oeles, welche in den wachsenden Theilen vorhanden

ist, dagegen im Vergleich mit *Arachis* eine so geringe, dass der Antheil, welchen die Oelwanderung in diesen Samen, am Stofftransport haben würde, nur ein äusserst geringe sein kann. — Bei *Cucurbita Pepo* fand ich in 100 Wurzelanlagen 0,233 gr Fett; bei einer Wurzellänge von 30 mm betrug dasselbe 0,095 gr und später, als die Wurzel ausgebildet war, und das Hypocotyl sich zu strecken begann 0,086 gr. Bei gleichzeitigem Verbrauch von Oel, lässt sich natürlich eine schwache Oelwanderung überhaupt nicht nachweisen. — Eine Stütze findet diese Annahme in dem hohen Säuregehalt des in Wurzel und Hypocotyl dieser Pflanzen befindlichen Fettes, worauf später noch weiter eingegangen wird.

Der Entwickelungsgang einer Reihe anderer Samen ist nun ein, von dem beschriebenen abweichender. Bei ihnen wird das Oel nicht schon in den Cotyledonen umgesetzt, sondern erst, nachdem es nach dem Orte seines Verbrauches hingeschafft worden ist, welcher Vorgang von Sachs als Oelwanderung bezeichnet wurde. Vor allem und am ausgesprochensten findet sich diese Erscheinung bei denjenigen Samen, deren Oel vorwiegend aus Leinölsäure besteht. Einen Beweis hierfür liefert uns die Jodzahl der Fette; denn die Triglyceride addiren in derselben Weise Jod, wie die freien Säuren. In allen Fällen nun, wo die Jodzahl eine hohe ist, also ungefähr 120 überschreitet, finden wir unzweifelhafte Oelwanderung beim Keimen der Samen. Ein Oel, das die Jodzahl 120 aufweist, muss mindestens 31,98% Leinölsäure enthalten, selbst wenn es nur aus dieser und aus Oelsäure bestände, welche ja ebenfalls Jod addirt. In dem Maasse nun, als der Gehalt des Oeles an Oelsäure abnimmt, und diese durch eine Säure der Fettsäure-Reihe ersetzt wird, erhöht sich der Gehalt des Oeles an Leinölsäure bei gleicher Jodzahl, sodass bei vollständiger Ersetzung, der Zahl 120 schon 62,53% Leinölsäure entsprechen. Dies Verhältniss findet thatsächlich beim Leinöl statt, dessen Jodzahl 158 beträgt, und welcher, soweit bekannt, ein Gehalt an Leinölsäure von 80% entspricht. — Oelwanderung findet also statt bei folgenden Samen, denen die nach der Hübl'schen Methode gefundenen Jodzahlen beigefügt sind:

Linum usitatissimum 158,0,
Calendula officinalis 151,8,
Camelina sativa, 147,7,
Cannabis sativa 143,0,
Papaver somniferum 136,0,
Helianthus annuus 133,6,
Allium Cepa 125,8,
Guizotia oleifera 123,2,
Silybum Marianum ?

Ihnen schliesst sich noch an: *Madia sativa*, dessen Oel ebenfalls viel Leinölsäure enthält, trotzdem seine Jodzahl nur 110,7 beträgt. Das Oel von *Modia satira* enthält neben Leinölsäure fast nur feste Fettsäuren, so

dass dieser niedrigen Jodzahl noch ein Gehalt von 57,69% Leinölsäure entsprechen kann. Es wird dies dadurch bewiesen, dass der Schmelzpunkt der freien Säuren des Oeles, welcher bei 28° liegt, bedeutend höher ist, als bei den übrigen Samen. Ausserdem deutet darauf auch die, während der Entwickelung von *Madia satira* auftretende grosse Menge Zucker hin.

Die Jodzahlen derjenigen Oele, welche in Samen ohne Oelwanderung vorhanden sind, sind dagegen niedriger, so dass dieselben keine grössere Menge Leinölsäure enthalten können, zumal sie zum grössten Theil aus Oelsäuretriglycerid bestehen. So betragen z. B. die Jodzahlen bei:

Coriandrum sativum 72,1,
Amygdalus communis 98,4,
Cheiranthus maritimus 116,9,
Gossypium herbaceum 106,0.

Die höchsten Jodzahlen in dieser Gruppe fand ich bei
Nigella sativa zu 120,9 und bei
Cucurbita Pepo zu 121,0.

Ansser den oben genannten Pflanzen mit Oelwanderung giebt es nun noch eine Gruppe von Samen, welche bei der Keimung ebenfalls Oelwanderung zeigen, und deren Oele nur eine niedrige Jodzahl haben. Es sind dies einige *Cruciferen*-Samen, deren Oele neben Behensäure $C_{22}H_{44}O_2$ grössere Mengen Erucasäure $C_{22}H_{42}O_2$ enthalten, und zwar: *Brassica Napus, Br. Rapa, Br. campestris, Br. nigra* und *Sinapis alba.* — Die Jodzahlen ihrer Fette schwanken zwischen 93,0 und 96,0. — Ihnen schliesst sich dann auch *Arachis hypagaea* an, deren Oel aus den Glyceriden der Palmitinsäure $C_{16}H_{32}O_2$, Arachinsäure $C_{20}H_{40}O_2$ und Hypogäasäure $C_{16}H_{30}O_2$ besteht und dessen Jodzahl 96,4 beträgt. Wie oben erwähnt, findet sich bei letzterer Oelwanderung neben Stärkewanderung.

Alle Keimlinge, bei deren Entwickelung Oelwanderung stattfindet, haben das Gemeinsame, dass im Parenchym der Cotyledonen erst dann Stärke auftritt, wenn die Streckung des Hypocotyls beendet ist. Auch in der Stärkescheide der Cotyledonen zeigt sich die Stärke erst in späteren Stadien, wenn das Hypocotyl etwa die Hälfte seiner endlichen Länge erreicht hat. Ferner enthält auch das Parenchym der Wurzel während der Ausbildung keine Stärke, und nur gegen Ende der Streckung im oberen Theil zuweilen etwas Zucker.

Die Entwickelung des Hypocotyl dagegen weist bei den verschiedenen Samen Differenzen auf. Indessen lassen sich auch hier Beziehungen zur Zusammensetzung ihrer Oele erkennen. Leider ist die Kenntniss der letzteren noch sehr mangelhaft, so dass man auch hier nur auf allgemeine Anhaltspunkte angewiesen ist. Im Grossen und Ganzen scheint es, dass bei der Ausbildung des Hypocotyls im Parenchxm desselben umsomehr Stärke auftritt, je mehr Säuren der Oelsäure-Reihe neben der Leinölsäure

in dem betreffenden Oele vorhanden sind. Andererseits nimmt die Quantität des in den Parenchymzellen des Hypocotyls auftretenden Zuckers zu mit dem Gehalt des Oeles an Säuren der Fettsäure-Reihe. Damit ist natürlich nicht gesagt, dass nun bei der Verarbeitung des Oeles die Oelsäure nur in Stärke, die Fettsäuren aber nur in Zucker umgewandelt werden. Die genannten Verhältnisse würden z. B. schon dann eintreten müssen, wenn bei der Umsetzung der Oele alle Säuren in gleicher Weise erst in Stärke und diese dann in Zucker verwandelt würden, diese Processe sich aber bei den verschiedenen Säuren mit ungleicher Schnelligkeit abspielen würden. Wodurch nun im einzelnen Falle Zucker, im anderen Stärke im Parenchym auftritt, lässt sich zur Zeit nicht entscheiden; möglich ist es ja auch, dass diese Verschiedenheiten durch andere Einflüsse hervorgerufen werden, welche nur secundär durch die Zusammensetzung der Oele beeinflusst werden.

In allen Fällen, wo Stärke auftritt, geschieht dies stets nur in demjenigen Theile des Hypocotyls, das direct über der Streckungszone liegt. — Bei Beginn der Streckung verschwindet sie dagegen sofort, indem an ihrer Stelle Zucker erscheint. Bei den Oelen mit sehr hoher Jodzahl, also bei *Linum*, *Cannabis*, *Calendula*, ebenso bei *Allium*, habe ich im Parenchym niemals Stärke gefunden; ausserordentlich gering war die Menge derselben bei *Camelina sativa*, wo in vielen Zellen gar keine, in anderen dagegen nur ein bis zwei kleine Körnchen auftraten. Ebenfalls wenig Stärke enthielten *Papaver somniferum*, *Helianthus annuus*, *Guizotia oleifera*, *Silybum Marianum* und *Madia sativa*. Dagegen war dieselbe sehr reichlich vertreten bei *Sinapis alba* und den obengenannten *Brassica*-Arten.

Zucker findet sich im Gegensatz zur Stärke in den sich gerade streckenden Theilen des Hypocotyl. Seine Menge nimmt im Allgemeinen zu mit dem Schmelzpunkt der freien Säuren. Ordnet man die Pflanzen nach den Schmelzpunkten der aus ihren Oelen freigemachten Säuren, so erhält man folgende Reihe:

Linum usitatissimum 17°,
Cannsabis sativa 19°,
Papaver somniferum 20,5°,
Brassica spec. und *Sinapis alba* 18°—20°,
Helianthus annuus 24°,
Madia sativa 28°.

In dieser Reihe nimmt auch zugleich der Gehalt der Streckungszone an Zucker zu. Eine Ausnahme macht nur *Cannabis sativa*, das während der ganzen Entwickelung keinen Zucker enthält; dagegen findet sich eine geringe Menge bei *Linum usitatissimum*, von dessen Oel man weiss, dass es neben Leinölsäure nur Myristinsäure, Palmitinsäure und Stearinsäure, dagegen keine oder nur Spuren Oelsäure enthält. Ausserordentlich viel

Zucker führt dagegen *Madia sativa*, dessen Parenchym so stark damit erfüllt ist, dass er auch noch zum Theil eine Zeit lang nach beendeter Streckung in den Zellen verbleibt. Es wurde schon oben auf den Zusammenhang zwischen der niedrigen Jodzahl und dem hohen Schmelzpunkt bei dem Madiaöl hingewiesen.

Nach beendeter Streckung des Hypocotyl enthalten die Parenchymzellen noch eine geringe Menge Oel, das erst allmählig verschwindet, ohne dass dabei Stärke oder, mit Ausnahme von *Madia*, Zucker auftritt. In der Stärkescheide führen alle genannten Pflanzen meist reichlich Stärke, welche erst nach beendeter Streckung allmählig von unten nach oben fortschreitend verschwindet, indem dabei häufig reichlich Zucker auftritt. Ein Uebergang des letzteren in das angrenzende Parenchym findet dabei jedoch nicht statt, so dass die Stärke und der Zucker wohl auch hier hauptsächlich zur Ausbildung der Gefässbündel dienen werden.

Ueber die Veränderungen, welche das Oel vor seiner Verarbeitung erleidet, führte zuerst Müntz[1]) Untersuchungen aus. Er wies nach, dass eine Spaltung der Neutralfette unter Auftreten freier Säure stattfindet, während das Glycerin verschwindet, indem es in andere Körper umgesetzt wird. Die von Müntz angewandte Methode der Fettsäure-Bestimmung durch Ermittelung der Löslichkeit der Fette in absolutem Alkohol, liefert allerdings viel zu hohe Werthe für ihren Gehalt an freien Säuren, da sich Neutralfette bei Gegenwart dieser ebenfalls reichlich in absolutem Alkohol lösen. Etwas niedrigere Ziffern erhält man, wenn man den von Müntz bestimmten Gesammt-Fettsäure-Gehalt unter Berücksichtigung des Säuregehaltes der Neutralfette, also der sogen. Hehner'schen Zahl, umrechnet. Dies unterlässt Müntz jedoch. — Immerhin sind auch die durch solche Berechnung zu erhaltenden Werthe sehr viel höher, als sie sich aus meinen, weiter unten angeführten Untersuchungen ergeben haben. Da Müntz die ganzen Keimlinge zur Untersuchung verwandte, so lässt sich aus seinen Angaben nicht entnehmen, in welchen Organen der Pflanzen die Spaltung der Fette vor sich geht. — Besonders ist dies von Wichtigkeit für diejenigen Pflanzen, bei deren Keimung Oelwanderung stattfindet. Am naheliegendsten wäre es ja, anzunehmen, das Fett würde bei Beginn der Keimung gespalten, worauf die freien Säuren nach dem Orte ihres Verbrauches hinwanderten. Dies findet indessen nicht statt; sondern, wie meine Versuche zeigen, enthält das auf den Wanderungsbahnen befindliche Oel oft nur eine relativ geringe Menge freier Säure, ein Beweis, dass schon ein geringer Gehalt des Oeles an dieser für die Wanderung ausreicht. Dagegen scheint doch ein gewisser Säuregehalt durchaus nöthig zu sein, da dieser bei der Wanderung stets vorhanden ist. — Die vollständige Spaltung

1) Müntz, Sur la germination des graines oléagineuses. Annales de chimie et de physique 1871, sér. IV, t. XXII, pg. 372.

findet dagegen erst kurz vor der endlichen Verarbeitung der Fette in denjenigen Organen statt, in welchen sie zur Verwendung gelangen. Da nun der Spaltung der Neutralfette der Verbrauch der freigewordenen Säuren unmittelbar folgt, so fällt der Zeitpunkt, in dem die Pflanzen nur noch freie Säuren enthalten, in ein sehr spätes Entwickelungsstadium, in welchem nur noch ein geringer Rest des Reserve-Oeles übrig geblieben ist. In ganz gleicher Weise wird auch das Oel bei der Keimung derjenigen Samen, welche keine Oelwanderung zeigen, erst kurze Zeit vor seiner Umsetzung in Stärke gespalten, so dass auch bei ihnen die freien Fettsäuren nicht in höherem Maasse angehäuft werden.

Eine bestimmte Ziffer für den Gehalt des auf der Wanderung begriffenen Fettes an freier Säure lässt sich nicht angeben. Im allgemeinen liegt derselbe zwischen 10 und 30 %. — Bestimmt man den Säure-Gehalt des Fettes in den verschiedenen Theilen der Keimpflanzen, so geben diejenigen, in denen das Reserveöl abgelagert war, natürlich einen zu niedrigen Werth, während die Organe, in denen das Fett nach der Wanderung zur Verwendung gelangt, einen zu hohen Gehalt angeben, da durch die in denselben stattfindende weitere Verarbeitung des Fettes, die Spaltung weiter fortgeschritten sein wird, als dies während der Wanderung der Fall war.

Der höchste Säure-Gehalt, welchen ich in den Cotyledonen fand, betrug bei *Cannabis sativa*, als das Hypocotyl eine Länge von 20 mm erreicht hatte, 9,72 %. Bei *Helianthus annuus* fand ich ihn in einem ziemlich späten Stadium, bei einer Länge der Hypocotyl von 40 mm zu 7,77 % und bei *Arachis hypogaea* sogar nur zu 5,98 %, nachdem Wurzel und Hypocotyl schon ihre Streckung beendet hatten und das Epicotyl die ersten Blätter entfaltete. Ebenso hatte auch das Oel im Endosperm von *Ricinus communis* zur Zeit, wo die Wurzel ihre Streckung beendet und das Hypocotyl eine Länge von 20 mm erreicht hatte, einen Säuregehalt von 8,72 %. Dieser fällt aber dadurch zu hoch aus, dass an der Basis des Endosperms schon reichliche Stärkebildung stattgefunden hatte, das in diesem Theile befindliche Oel also jedenfalls einen grösseren Gehalt an freier Säure besass.

Den niedrigsten Säuregehalt des im Hypocotyl befindlichen Oeles, das also schon die Wanderung durchgemacht, fand ich bei *Helianthus* bei einer Länge des Hypocotyl von 10 mm zu 30,42 %, bei *Cannabis sativa* bei einer Länge des Hypocotyl von 20 mm in Wurzel und Hypocotyl zusammen zu 39,07 %; doch ist in diesem Falle der Säuregehalt des im Hypocotyl befindlichen Fettes geringer, da, wie ich ein anderes Mal bei *Helianthus* fand, das nach beendeter Streckung in der Wurzel verbleibende Fett aus reiner Säure besteht. Bei *Arachis hypogaea* betrug, als die Wurzel bereits ausgebildet war und das Hypocotyl eine Länge von 5 mm besass der Gehalt des in beiden befindlichen Oeles an freier Säure nur

16,19 %. Für das aus dem Endosperm von *Ricinus* von den Cotyledonen aufgesogene und in demselben befindliche Fett bestimmte ich den Gehalt an freier Säure zu 30,56 %; doch auch hier ist der Werth durch die schon in den Cotyledonen vor sich gehende weitere Umsetzung zu hoch ausgefallen. Der Gehalt des auf der Wanderung befindlichen Oeles an freier Säure muss daher mindestens 5—7 % betragen, wird aber in der Regel höher sein, da die Entleerung der Cotyledonen von der Basis nach der Spitze zu fortschreitend stattfindet und demzufolge das in den Zellen an der Basis befindliche Oel einen höheren, in der Spitze aber einen niedrigeren Gehalt an freier Säure aufweisen wird, als der Durchschnittswerth. Andererseits ist das auf der Wanderung befindliche Fett niemals freie Säure, sondern der Gehalt an solcher erreicht höchstens 30 %, ist aber meist geringer. —

Durch mikroskopische Beobachtung, besonders unter Anwendung der Plasmolyse kann man leicht feststellen, dass das Oel in den Zellen der Wanderungsbahnen zwar hauptsächlich dem Plasma eingelagert ist, dass sich aber doch häufig kleine Tröpfchen zwischen Plasma und Zellwand finden. Das Oel kann also den Plasmakörper der Zelle verlassen und, wie wir bei der künstlichen Einführung von Fetten in lebende Zellen gesehen haben, ist es auch durch seinen thatsächlich vorhandenen Gehalt an freier Säure befähigt, die Zellhaut zu durchwandern, um dann in den Plasmakörper der nächsten Zelle einzudringen. — Ob die Wanderung des Oeles nun wirklich in dieser Weise zu Stande kommt, lässt sich nicht mit Sicherheit entscheiden. Ebensowenig ist zu sagen, welche Kräfte das Oel in diesem Falle zur Wanderung zwingen würden, da die bei wasserlöslichen Körpern in Betracht kommenden Concentrationsunterschiede in den einzelnen Zellen bei dieser Art der Oelwanderung nicht die Ursache sein könnten. Jedenfalls ist aber die Möglichkeit einer solchen Wanderung gegeben, so dass dadurch die Annahme einer vorübergehenden Umsetzung des Fettes in Zucker, zum Zwecke der Durchwanderung der Zellhaut, unnöthig wird, zumal keine empirischen Thatsachen für einen derartigen Vorgang sprechen. Diese Theorie entsprang nur aus der Annahme, dass die wasserdurchtränkte Zellhaut für die Fette impermeabel sei; dieselbe fällt aber mit dem erwiesenen Eindringen des Fettes von den Intercellularen aus in die Zellen. Das Vorkommen von Fetttröpfchen zwischen Zellwand und Plasma scheint auch dafür zu sprechen, dass für die Oelwanderung die Plasmaverbindungen, wenn überhaupt, so doch nicht allein maassgebend sind, obgleich es durchaus nicht ausgeschlossen ist, dass Oel auch in diesen wandern kann, ohne also den Plasmakörper zu verlassen.

Wie bei der Einführung des Fettes von aussen in Zellen, entsteht auch hier die Frage, ob das Oel nur als seifenartige Verbindung von Zelle zu Zelle wandert, oder zum Theil als Emulsion, also ohne dabei eine Umwandlung zu erleiden. Ich möchte auch hier letzteren Vorgang für wahrscheinlich halten. Es lassen sich dafür mehrere Gründe anführen. Zunächst

spricht dafür der hohe Gehalt des wandernden Fettes an Neutralfett. Würde nun lediglich eine Wanderung als Seife möglich sein, so müsste das Neutralfett in jeder Zelle gespalten werden, worauf beide Componenten gesondert bis in die folgende Zelle gelangen. Nachdem in dieser die Fettsäure regenerirt, müsste dann wieder die Verbindung dieser mit dem Glycerin vor sich gehen, um alsbald wieder aufgehoben zu werden, welches Spiel sich in jeder Zelle der Wanderungsbahn wiederholen würde. Die Verbindung von Fettsäure und Glycerin zu Neutralfett findet nun aber, wie bekannt, sehr schwierig statt, was indessen nicht ausschliesst, dass dieselbe in der Pflanzenzelle unter der Wirkung besonderer Molekularkräfte dennoch vor sich gehen kann. — Würde dagegen das Oel als Emulsion wandern, so könnte das Neutralfett ohne Zersetzung von Zelle zu Zelle gelangen, da ja die vorhandene freie Säure durch die Bildung seifenartger Verbindungen den Durchgang vermittelt. Eine solche Art des Durchganges ist für die Aufsaugung des Fettes durch die Darmschleimhaut im thierischen Organismus bekannt, und die hier, wie auch bei der künstlichen Einführung der Fette in Zellen, die Aufnahme bewirkenden Kräfte werden auch die Oelwanderung reguliren. In gleicher Weise, wie der Gehalt des wandernden Fettes an Neutralfett, spricht für eine Wanderung des Fettes als Emulsion auch der Umstand, dass das auf den Wanderungsbahnen anzutreffende Oel, wenn nicht ganz, so doch nahezu dieselbe Zusammensetzung hat, wie zur Zeit seiner Lagerung in den Reservestoffbehältern. Trotzdem also z. B. die Leinölsäure für die Oelwanderung besonders geeignet ist, in der Art, dass ein hoher Gehalt des Reserveöles an Leinölsäure, Oelwanderung zur Folge hat, so findet doch keine verschiedene oder verschieden schnelle Verarbeitung oder Wanderung der einzelnen in einem Fette vorhandenen Säuren statt. In keinem Falle konnte ich eine Anhäufung dieser oder jener Säure beobachten. Während also Trioleïn und Tripalmitin, wenn sie allein oder zusammen in einem Oele vorhanden sind, direct in den Zellen, in denen sie abgelagert sind, in Stärke oder Zucker verwandelt werden, wandern sie dagegen, wenn sie in einem Oele mit Trilinoleïn gemischt sind, mit diesem in die wachsenden Organe.

Bemerkenswert ist ferner auch eine Beobachtung von Pacht (l. c.). Derselbe zeigte, dass durch concentrirte Zuckerlösungen, wie oben erwähnt, theilweise Lösung und reichliche Emulgirung der Fette, besonders bei Gegenwart freier Säuren, stattfindet. Dasselbe geschieht aber in verschiedenem Grade und verschieden leicht bei den einzelnen Fetten. Am wenigsten sind dazu die thierischen Fette befähigt, welche hauptsächlich Säuren der Fettsäure-Reihe erhalten. Bei den vegetabilischen Fetten zeigen sich diese Erscheinungen deutlicher, unter ihnen aber am leichtesten bei den trocknenden Oelen, also gerade bei denen, welche als Reservestoffe derjenigen Samen vorkommen, die bei ihrer Keimung die beste Oelwanderung zeigen.

Untersuchungen über die Veränderungen der Reserve-Oele während der Keimung der Samen.

Zu den folgenden Versuchen, welche die Beweise für die im vorhergehenden Abschnitt aufgestellten Behauptungen liefern, wurden als Versuchsobjecte sowohl solche Samen mit, als auch ohne Oelwanderung gewählt, und zwar: *Helianthus annuus*, *Arachis hypogaea*, *Cannabis sativa*, *Cucurbita Pepo* und *Ricinus communis*. — Die Samen wurden zunächst vollständig ausgelesen und nur diejenigen verwandt, welche ein ganz gesundes Aussehen hatten. Ausserdem wurde auch darauf Bedacht genommen, nur Samen von möglichst gleicher Grösse auszuwählen, während alle besonders grossen und kleinen Exemplare ausgeschlossen wurden. Nachdem die Samen 24 Stunden in destillirtem Wasser quellen gelassen, wurden sie in flachen Schalen aus unglasirtem Thon in feuchte Sägespäne ausgesäet, wobei darauf geachtet wurde, dass die einzelnen Samen sich einander nicht berührten. Dieselben wurden dann in einem Dunkelschranke bei Zimmertemperatur im Spätsommer der Keimung überlassen, indem nur für genügende Feuchtigkeit gesorgt wurde. Sobald die Keimlinge eine für die Untersuchung geeignete Grösse erreicht hatten, wurden sie sorgfältig aus den Sägespänen herausgenommen. Dabei wurden, um ein Abreissen der Wurzeln zu verhüten, die an letzteren haftenden Sägespäne mit aus den Gefässen herausgenommen und unter einem sanften Wasserstrahle abgespült. Es zeigte sich nun, dass von den zur Aussaat gelangten Samen nur sehr wenige keimunfähig gewesen waren. Bei *Helianthus* und *Cannabis* betrug ihre Anzahl nur ungefähr 0,5—1 %, während bei den übrigen sich kaum ein Same nicht entwickelt hatte.

Die gesammelten Keimpflanzen unterlagen nun abermals einer sorgfältigen Auslese und es wurden nur solche Pflanzen zu den weiteren Untersuchungen verwandt, welche genau gleichweit entwickelt waren. Nachdem dieselben in mehrere Theile zerlegt waren, gelangten dann die einzelnen Organe getrennt zur Untersuchung. Letztere erstreckte sich, um einen besseren Vergleich zu gewähren, stets auf eine bestimmte Anzahl von Keimlingen, und zwar betrug diese bei den kleineren Samen je 1000, bei den grösseren je 100, oder stand wenigstens zu diesen Zahlen im einfachen Verhältniss, so dass die Resultate sofort auf dieselben umgerechnet werden konnten.

Das Untersuchungsmaterial wurde nun zunächst auf Fliesspapier ausgebreitet und auch von solchem bedeckt, an einem luftigen Orte möglichst schnell abtrocknen lassen und dann in tarirten Schälchen bei 105° getrocknet. Sobald die Substanz pulverisirbar war, wurde sie unter Zusatz einer gewogenen Menge feinen geglühten Quarzsandes fein zerrieben, der Mörser erst mit einem Theil des Sandes, dann mit Aether nachgespült, welche mit in das Schälchen zurückgethan wurden. Jetzt wurde das Trocknen bei 105° fortgesetzt, bis keine Gewichtsabnahme mehr erfolgte.

Die so erhaltene Trockensubstanz wurde nun im Soxhlet'schen Apparat mit Petroleumäther vollkommen extrahirt. Die Verwendung von Petroleumäther ist zwar weniger angenehm, als die von Aether, doch bietet ersterer bei der Trennung von Neutralfett und freier Säure so bedeutende Vortheile, dass ich ihm deshalb den Vorzug einräumte. Der benutzte Petroleumäther wurde aber vorher mehrere Male rectificirt und dabei alle über 60° siedenden Antheile verworfen. Die Substanz erst mit Aether zu extrahiren und die Trennung von Neutralfett und freier Säure mit Petroleumäther auszuführen war deshalb nicht rathsam, weil aus den Keimlingen auch unverseifbare Substanzen ausgezogen werden, von denen nicht feststeht, ob sie von beiden Lösungsmitteln aufgenommen werden, und dies ihre Bestimmung sehr erschwert haben würde. Nachdem der Petroleumäther von der Fettlösung abdestillirt war, wurde das rückständige Rohfett bei 105° bis zum constanten Gewicht getrocknet. Dies dauert bei Verwendung von Petroleumäther bedeutend länger, als bei Aether, da die letzten Reste des Petroleumäthers sehr energisch vom Fett zurückgehalten werden.

Das gewogene Rohfett wurde nun unter Erwärmen in 25 ccm 96 % Alkohol gelöst, oder in demselben durch Schütteln vertheilt und unter Zusatz einiger Tropfen Phenolphtaleïnlösung mit einer titrirten alkoholischen, ungefähr ½ normalen Kalilauge genau neutralisirt. — Löst sich das Neutralfett auch anfänglich nicht in dem Alkohol, so findet doch sofort nach Zusatz einiger Tropfen der Kalilauge feinste Vertheilung durch die gebildete Seife statt. Da die alkoholische Kalilauge beständig ihren Titer ändert, so muss dieselbe natürlich jedesmal gegen ½ Normal-Salzsäure eingestellt werden und die erhaltenen Werthe sind dann auf Normal-Flüssigkeit umzurechnen. Ebenso muss der Säurewerth des verwandten Alkohols ermittelt und von der zur Neutralisation nöthigen Kalilauge abgezogen werden.

Die neutralisirte Masse wurde dann in einen Scheidetrichter gebracht und der Kolben erst mit Alkohol, dann mit Petroleumäther ausgespült, welche ebenfalls in den Scheidetrichter gethan wurden. Nachdem der Masse dann 150 ccm Wasser zugesetzt waren, wurde sie sanft durcheinander geschüttelt und der Ruhe überlassen. Nach 24 Stunden war völlige Trennung eingetreten. Die untere Schicht enthielt die wässrig-alkoholische Seifenlösung, welche meist nur eine sehr schwache Opalescenz zeigte, während die obere Schicht von der Lösung des Neutralfettes im Petroleumäther gebildet wird. Hat man grössere Mengen Fett in Arbeit, so thut man gut, die angegebene Menge Alkohol und Wasser zu verdoppeln oder zu verdreifachen, da dies die Trennung wesentlich erleichtert. Ein zu starkes Durchschütteln der Masse im Scheidetrichter muss man vermeiden, da der Petroleumäther dann leicht etwas Seife auflöst und die Tennung dadurch sehr erschwert. Letzteres ist auch der Grund, weshalb sich Aether nicht hierzu verwenden lässt. Die Löslichkeit der Seife in Aether

ist eine grössere als in Petroleumäther und beim Durchschütteln der Masse entsteht leicht eine dicke Emulsion, welche sich nicht oder doch nur unvollkommen in zwei Schichten trennt. Wenn auch die Seifenlösung noch etwas Fett enthalten sollte, so sieht man doch besser von einer nochmaligen Ausschüttelung derselben ab, da das Neutralfett bei der weiteren Behandlung sich noch sammeln lässt.

Beide im Scheidetrichter befindlichen Flüssigkeiten wurden nun genau getrennt, indem die Seifenlösung unten abgelassen wurde und dann die Fettlösung aus dem oberen Tubus ausgegossen. Nachdem der Trichter mehrere Male vorsichtig mit Petroleumäther ausgeschwenkt und dieser zu der Fettlösung gethan, wurde der Rest der im Trichter befindlichen Seifenlösung mit Alkohol ausgespült und dieser der Seifenlösung zugefügt.

Letztere wurde nun auf dem Wasserbade bis zur völligen Verjagung des Alkohols erhitzt und dann durch ein nasses Filter in einen Scheidetrichter filtrirt und Schale und Filter mit heissem Wasser nachgewaschen. Enthielt die Seifenlösung noch etwas Neutralfett, so schied sich dies beim Verdampfen des Alkohols auf der Oberfläche der Flüssigkeit in Tropfenform ab oder legte sich an die Porzellanschale an, und blieb dann beim Filtriren der Flüssigkeit in der Schale oder auf dem Filter zurück. Nach dem Trocknen wurde es dann in Petroleumäther gelöst und der Lösung des Neutralfettes zugefügt. Die Seifenlösung wurde durch verdünnte Schwefelsäure zersetzt, die abgeschiedene Fettsäure mit Petroleumäther ausgeschüttelt und nach dem Verdunsten desselben gewogen.

Das Neutralfett wurde ebenfalls zur Trockene gebracht und gewogen, worauf es mit einem Ueberschuss von $^1/_2$ Normal-Kalilauge bis zur völligen Verseifung gekocht wurde. Es genügt, wenn man auf 1 gr Fett 10—15 ccm Kalilauge verwendet. Nach beendeter Verseifung wurde dann die überschüssige Kalilauge, unter Verwendung von Phenolyhtaleïn als Indikator, mit $^1/_2$ Normal-Salzsäure zurücktitrirt. Die Seifenlösung wurde wie oben, nach Verdünnen mit Wasser, bis zum völligen Verdampfen des Alkohols erhitzt und darauf durch ein nasses Filter filtrirt, das mit heissem Wasser nachgewaschen wurde. Auf letzterem blieben dabei etwaige, den Pflanzen durch Petroleumäther entzogene, unverseifbare Substanzen zurück. Dieselben wurden nach dem Trocknen des Filters mit Petroleumäther aufgenommen und nach dem Verdampfen desselben gewogen. Ihre Menge war meist geringer als 1 mgr, so dass sie vernachlässigt werden konnte; nur wenige Male betrug sie bis zu 3 mgr und wurde dann von der Quantität des erhaltenen Rohfettes in Abzug gebracht. Aus der erhaltenen Seifenlösung wurden die Säuren mittelst verdünnter Schwefelsäure abgeschieden, mit Petroleumäther ausgeschüttelt und nach dem Trocknen gewogen. Der %-Gehalt des Neutralfettes an Säuren ergiebt die sog. Hehner'sche Zahl. — Diese Methode zur Trennung von Neutralfett und freier Fettsäure giebt sehr brauchbare Resultate. Unter Berücksichtigung der Hehner'schen Zahl

kann man aus der zur Neutralisation der freien Säure und der zur Verseifung des Neutralfettes nöthigen Mengen Kalihydrat die Quantität der freien Säure berechen nach der Gleichung:

$$x = \frac{y \cdot \frac{a \cdot h}{100}}{b + \frac{a \cdot h}{100}}$$

in welcher y die Menge des Rohfettes, a die zu seiner Neutralisation und b die zur Verseifung des Neutralfettes dienende Menge Kalihydrat, h aber die Hehner'sche Zahl bezeichnet. So gebrauchten in einem Falle 6,498 gr aus den Cotyledonen von *Helianthus* gewonnenes Rohfett zur Neutralisation 1,15 ccm $^1/_2$ Normal-Kalilauge = 0,0322 gr *KHO* und zur Verseifung des Neutralfettes 41,30 ccm $^1/_2$ Normal-Kalilauge = 1,156 *KHO*, während die Hehner'sche Zahl 95,61 betrug. Es berechnet sich darnach mit Hilfe obiger Gleichung der Gehalt an freier Fettsäure zu

$$\frac{6{,}498 \quad \frac{0{,}0322 \cdot 95{,}61}{100}}{1{,}156 + \frac{0{,}0322 \cdot 95{,}61}{100}} = 0{,}1696 \text{ gr} = 2{,}61\ \%.$$

Gefunden wurden 0,173 gr = 2,66 %. — Im Hypocotyl von *Arachis hypogaea* betrug in einem Falle das Rohfett 0,353 g und erforderte zur Neutralisation der freien Säure 0,65 ccm $^1/_2$ Nomal-Kalilauge = 0,0182 gr *KHO*, zur Verseifung des Neutralfettes 1,80 ccm $^1/_2$ Normal-Kalilauge = 0,0504 gr *KHO*. Da die Hehner'sche Zahl 95,0 betrug, so berechnet sich daraus die freie Fettsäure zu

$$\frac{0{,}353 \,.\, \frac{0{,}0182 \cdot 95{,}0}{100}}{0{,}0504 + \frac{0{,}0182 \cdot 95{,}0}{100}} = 0{,}0902 \text{ gr} = 25{,}55\ \%.$$

Gefunden wurde aber 0,091 gr = 25,78 %. — Die sich hierbei sich ergebenden Differenzen liegen nun schon innerhalb der Fehlergrenzen beim Titriren mit der Kalilauge, da hierbei 0,05 ccm die höchste zu erreichende Genauigkeit ist, und die Anwendung einer verdünnteren Kalilauge sich für die Verseifung nicht empfiehlt. — Der Verlust an Substanz, welcher bei dieser Trennung eintrat, war bei vorsichtigem Arbeiten minimal; selten betrug er bis 3 mgr; derselbe wurde dann dem gefundenen Neutralfett zugezählt, da dies hauptsächlich davon betroffen sei dürfte.

Die gewonnenen freien Fettsäuren dienten theils zu Schmelzpunktbestimmungen; in allen Fällen wurde aber nach der oben erwähnten Hübl'schen Methode ihre Jodzahl ermittelt. Dabei wurde stets möglichst schnell gearbeitet, um eine Oxydation der freien Säuren an der Luft thunlichst auszuschliessen.

Versuche mit Helianthus annuus.

1000 Samen ergaben 37,50 gr Trockensubstanz mit 11,415 gr Rohfett. Zur Neutralisation der freien Säure waren 1,25 ccm $^1/_2$ Normal-Kalilauge = 0,035 gr *KHO* erforderlich. Die freie Säure betrug 0,184 gr = 1,605 %, das Neutralfett betrug 11,231 gr = 98,395 % und erforderte zur Verseifung 73,40 ccm $^1/_2$ Normal-Kalilauge = 2,055 gr *KHO*. 1 gr Neutralfett erfordert demnach zur Verseifung 182,9 mgr *KHO* (Köttsdorfer'sche Zahl). Die Säure des Neutralfettes betrug 10,730 gr = 95,54 % (Hehner'sche Zahl).

Als erste Keimungsperiode wurde eine Entwickelung gewählt, bei der die Wurzel ihre Streckung beendet, das Hypocotyl dieselbe begonnen und eine Länge von 10 mm erreicht hatte. Die mikroskopische Untersuchung ergab in der Wurzel: im Parenchym nur Oel, in der Scheide Stärke und Zucker; im Hypocotyl: in der Scheide Stärke, im Parenchym reichlich Oel, im oberen Theile daneben vereinzelte Stärkekörner, im unteren, in der Streckung begriffenen aber Zucker. — Die Trockensubstanz von 1000 Keimlingen betrug 36,56 gr; davon entfielen auf die Schalen 16,26 gr, die Cotyledonen 15,80 gr, das Hypocotyl 3,10 gr und die Wurzeln 1,40 gr. Der Fettgehalt betrug in den Cotyledonen 6,498 gr, im Hypocotyl 0,286 gr, in den Wurzeln 0,054 gr, also im ganzen 6,838 gr.

Die 6,498 gr Rohfett der Cotyledonen erforderten zur Neutralisation 1,15 ccm $^1/_2$ Normal-Kalilauge = 0,0322 gr *KHO* und enthielten 0,173 gr = 2,66 % freie Säure. Das Neutralfett betrug 6,325 gr = 97,34 % und wurde durch 41,30 cm $^1/_2$ Normal-Kalilauge verseift = 1,156 gr *KHO*; 1,0 gr also durch 182,8 mgr *KHO*. Die Säure des Neutralfettes betrug 6,046 gr = 95,61 %.

Im Hypocotyl betrug die Menge des Aetherextractes 0,289 gr; dieselbe erforderte zur Neutralisation 0,60 ccm $^1/_2$ Normal-Kalilauge = 0,0168 gr *KHO* und enthielt 0,087 gr = 30,42 % freier Säure. Der Rest des Aetherextractes bestand aus 0,003 gr unverseifbarer Substanz und 0,199 gr Neutralfett, welches durch 1,30 ccm $^1/_2$ Normal-Kalilauge = 0,0364 gr *KHO* verseift wurde und 0,189 = 94,98 % Säure enthielt.

Der Aetherextract der Wurzeln wog 0,056 gr und bestand aus 0,002 gr unverseifbarer Substanz und 0,054 gr freier Säure, welche durch 0,35 ccm $^1/_2$ Normal-Kalilauge = 0,0098 gr *KHO* neutralisirt wurde. Neutralfett fehlte.

Zum zweiten Male wurden Keimlinge von *Helianthus annuus* in einem späteren Stadium untersucht, als das Hypocotyl eine Länge von 40 mm besass. Die Wurzeln waren völlig ausgebildet und führten im Parenchym nur noch sehr geringe Spuren von Oel, während die Stärkescheide bis auf den obersten Theil entleert war und weiter herab nur noch etwas Zucker enthielt. Das Hypocotyl führte in der Scheide reichlich Stärke, im Parenchym reichlich Oel und daneben etwas Zucker in der Streckungszone, sowie über derselben einzelne Stärkekörner. — 1000 Keimlinge gaben

34,99 gr Trockensubstanz, von der 16,26 gr auf die Schalen, 9,95 gr auf auf die Cotyledonen und 8,78 gr auf Hypocotyl und Wurzeln entfielen. Der Fettgehalt betrug 2,263 gr, wovon die Cotyledonen 1,903 gr, Hypocotyl und Wurzeln 0,360 gr enthielten.

Der Aetherextract der Cotyledonen wog 1,906 gr, wovon 0,003 gr unverseifbar waren. Zur Neutralisation waren 1,00 ccm 1/2 Normal-Kalilauge = 0,028 gr *KHO* erforderlich. Freie Säure war 0,148 gr = 7,77 % vorhanden. Das Neutralfett betrug 1,755 gr = 92,23 %, welche zur Verseifung 11,50 ccm 1/2 Normal-Kalilauge erforderten (1 gr = 183,5 mgr *KHO*) und 1,670 gr = 95,16 % Fettsäure enthielten.

Das Rohfett aus Hypocotyl und Wurzeln betrug 0,363 gr mit 0,003 gr unverseifbarer Substanz. Zur Neutralisation der freien Säure, welche 0,166 gr = 46,11 % betrug, dienten 1,10 ccm 1/2 Normal-Kalilauge = 0,0308 gr *KHO*. Das Neutralfett wog 0,194 gr = 53,89 % und wurde durch 1,25 ccm 1/2 Normal-Kalilauge = 0,035 gr *KHO* verseift. Es enthielt 0,184 gr = 94,85 % Fettsäure.

Die folgende Tabelle mag eine Uebersicht über die erhaltenen Werthe und die daraus zu ziehenden Schlüsse geben.

No.	Pflanzentheil.	Roh-Fett.	Neutral-Fett.	Freie Säure.	Säure-gehalt d. Rohfetts %.
1	Samen	11,415	11,231	0,184	1,605
2	Periode I. Cotyledonen	6,498	6,325	0,173	2,66
3	Periode I. Hypocotyl	0,286	0,199	0,087	30,42
4	Periode I. Wurzeln	0,054	—	0,054	100,0
5	Periode I. Summa	6,838	6,524	0,314	4,59
6	Periode II. Cotyledonen	1,903	1,755	0,148	7,77
7	Periode II. Hypocotyl und Wurzeln	0,360	0,194	0,166	46,11
8	Periode II. Summa	2,263	1,949	0,314	13,88
9	Verbrauch in der I. Periode	4,577	4,707	— 0,130	
10	„ in der II. „	4,575	4,575	± 0	
11	„ in der I. und II. Periode	9,152	9,282	— 0,130	
12	Aus den Cotyledonen ausgewandert in der I. Periode	4,917	4,906	0,011	
13	„ in der II. Periode	4,595	4,570	0,025	
14	„ in der I. u. II. Periode	9,512	9,476	0,036	

In dieser Zusammenstellung ergiebt sich aus den Reihen 9, 10 und 11 die während der einzelnen Zeitabschnitte in andere Körper umgesetzte

Menge Fett, während 12, 13, 14 die Auswanderung des Fettes aus den Cotyledonen zeigen. Bemerkenswerth ist vor allem, dass in den Cotyledonen nicht eine Spaltung des Fettes in grösserem Massstabe stattfindet. Der absolute Gehalt des Fettes an freier Säure hat sogar etwas abgenommen, da die Spaltung nicht gleichen Schritt mit der Auswanderung hält. Der relative Säuregehalt hat sich dagegen langsam von 1,605 auf 7,77 % erhöht. Es folgt daraus, dass die Spaltung des Fettes nur da vor sich geht, wo dasselbe seine Ablagerungsstätte verlässt, also von der Basis nach der Spitze allmählig fortschreitend. Das in Zersetzung begriffene Fett wandert dann aber auch sofort aus den Cotyledonen aus. Der Fettgehalt in Hypocotyl und Wurzel unterliegt nur langsamen Schwankungen, er nimmt anfangs etwas zu und bei der Streckung etwas ab. Der Gehalt des im Hypocotyl befindlichen Fettes an freier Säure beträgt nach der ersten Periode, wenn das Fett erst eine geringe Zersetzung erfahren hat, 30,42 %. Das Oel hat also während seiner Wanderung einen Säuregehalt gehabt, welcher zwischen 7,77 und 30,42 % liegt. Sobald Hypocotyl oder Wurzel ihre Streckung beendet haben, besteht der dann noch in den Zellen verbleibende geringe Rest des Fettes aus freier Säure, wie dies in den Wurzeln der ersten Periode der Fall ist, und wodurch auch der Säuregehalt des in Hypocotyl und Wurzel der zweiten Periode befindlichen Fettes auf 46,11 % erhöht wird. Der Gehalt des in den ganzen Keimlingen befindlichen Fettes an freier Säure nimmt nur sehr langsam zu; derselbe beträgt nach der ersten Periode 4,59 % und nach der zweiten Periode nur 13,88 %, letzteres also zu einer Zeit, in der schon 83,33 % alles vorhanden gewesenen Reserveöles verbraucht worden sind.

Versuche mit Arachis hypogaea.

Die Versuche wurden in derselben Weise ausgeführt, wie dies bei *Helianthus* angegeben. Die erhaltenen Werthe sind folgende.

100 Samen mit 47,30 gr Trockensubstanz enthielten 23,092 gr Fett.
Neutralisirt durch 1,90 ccm ½ *n*-Kalilauge = 0,0532 gr *KHO*.
Freie Säure = 0,260 gr = 1,13 %.
Neutralfett = 22,832 gr = 98,87 %; verseift durch 155,80 ccm ½ *n*-Kalilauge = 4,3624 gr *KHO* (1 gr also durch 191,1 gr *KHO*).
Gebundene Säure = 21,713 gr = 95,1 %.

Die Keimpflanzen wurden in drei Perioden untersucht; das erste Mal bei einer Wurzellänge von 15 mm, dann nach Ausbildung des Hypocotyl und drittens zu einer Zeit, wo das Epicotyl 20 mm lang war und die ersten Blätter zu entfalten begann.

Nach der ersten Periode ergaben 100 Keimlinge, deren Wurzeln 15 mm und deren Hypocotyl 5 mm lang waren, ein Trockengewicht von 44,40 gr, wovon die Cotyledonen 42,00 gr, Hypocotyl und Wurzeln 2,40 gr wogen.

Die Cotyledonen enthielten 18,400 gr Fett, neutralisirt durch 5,40 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 0,1512 gr *KHO*. Freie Säure = 0,752 gr = 4,09 %. Neutralfett = 17,648 gr = 95,91 %; verseift durch 120,45 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 3,3726 gr *KHO* (Verseifungszahl = 191,1). Gebundene Säure = 16,783 gr = 95,10 % des Neutralfettes.

Hypocotyl und Wurzel: Rohfett = 0,346 gr, neutralisirt durch 0,40 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 0,0112 gr *KHO*. Freie Säure = 0,056 gr = 16,19 %. Neutralfett = 0,290 gr = 83,81 %; verseift durch 2,00 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 0,056 gr *KHO* (Verseifungszahl 193,1). Gebundene Säure = 0,275 gr = 94,8 % des Neutralfettes.

Nach der zweiten Periode war die Wurzel völlig ausgebildet, mit zahlreichen Nebenwurzeln versehen, und das Hypocotyl hatte eine Länge von 25 mm erreicht. 100 Keimlinge hatten ein Trockengewicht von 37,60 gr, von denen 32,50 gr auf die Cotyledonen, 5,10 gr auf Wurzeln und Hypocotyl entfielen.

Cotyledonen: Rohfett 14,287 gr, neutralisirt durch 5,10 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 0,1428 gr *KHO*. Freie Säure = 0,711 gr = 4,98 %. Neutralfett = 13,576 gr = 95,02 %; verseift durch 92,65 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 2,5932 gr *KHO* (Verseifungszahl 191,2). Gebundene Säure = 12,910 gr = 95,10 % des Neutralfettes.

Hypocotyl und Wurzeln: Rohfett = 0,353 gr, neutralisirt durch 0,65 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 0,0182 gr *KHO*. Freie Säure = 0,091 gr = 25,78 %. Neutralfett = 0,362 gr = 74,22 %; verseift durch 1,80 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 0,0504 gr *KHO* (Verseifungszahl 192,3). Gebundene Säure = 0,249 gr = 95,0 % des Neutralfettes.

Nach der dritten Periode betrug die Trockensubstanz von 100 Keimlingen 36,20 gr, wovon 23,70 gr auf die Cotyledonen, 12,50 gr auf die übrigen Theile kamen.

Cotyledonen: Rohfett 10,037 gr, neutralisirt durch 4,30 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 0,1204 gr *KHO*. Freie Säure = 0,600 gr = 5,98 %. Neutralfett = 9,437 gr = 94,02 %; verseift durch 64,40 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 1,8032 gr *KHO* (Verseifungszahl 191,1). Gebundene Säure = 8,970 gr = 95,0 % des Neutralfettes.

Wurzel, Hypocotyl und Epicotyl: Rohfett 0,262 gr, neutralisirt durch 0,50 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 0,014 gr *KHO*. Freie Säure = 0,070 gr = 29,31 %. Neutralfett = 0,192 gr = 70,69 %; verseift durch 1,30 ccm 1/2 *n*-Kalilauge = 0,0364 gr *KHO* (Verseifungszahl 189,6). Gebundene Säure = 0,182 gr = 94,8 % des Neutralfettes.

Wie aus der nachstehenden Zusammenstellung der mit *Arachis hypogaea* erhaltenen Resultate ersichtlich ist, lassen sich aus diesen ähnliche Schlussfolgerungen ableiten, wie bei *Helianthus annuus*. Die Reihen 16—20 geben die Mengen des aus den Cotyledonen in den einzelnen Perioden verschwundenen Fettes. Dadurch, dass dies nur zum Theil

No.	Pflanzentheil.	Roh-Fett gr.	Neutral-Fett gr.	Freie Säure gr.	Säure-gehalt d. Rohfetts %
1	Samen	23,092	22,832	0,260	1,13
2	I. Periode. Cotyledonen	18,400	17,648	0,752	4,09
3	I. Periode. Hypocotyl und Wurzeln	0,346	0,290	0,056	16,19
4	I. Periode. Summa	18,746	17,938	0,808	4,31
5	II. Period. Cotyledonen	14,287	13,576	0,711	4,98
6	II. Period. Hypocotyl und Wurzeln	0,353	0,262	0,091	25,78
7	II. Period. Summa	14,640	13,838	0,802	5,47
8	III. Period. Cotylodonen	10,037	9,437	0,600	5,98
9	III. Period. Epicotyl, Hypocotyl u. Wurzeln	0,262	0,192	0,070	29,31
10	III. Period. Summa	10,299	9,629	0,670	6,50
11	Verbrauch in der I. Periode	4,346	4,894	— 0,648	
12	„ in der II. Periode	4,106	4,100	0,006	
13	„ in der I. und II. Periode	8,452	8,994	— 0,542	
14	„ in der III. Periode	4,341	4,209	0,132	
15	„ in der I., II. u. III. Periode	12,793	13,203	— 0,410	
16	Aus den Cotyledonen ausgewandert in der I. Periode	4,692	5,184	— 0,492	
17	„ in der II. Periode	4,113	4,072	0,041	
18	„ in der I. u. II. Periodd	8,805	9,258	— 0,451	
19	„ in der III. Periode	4,250	4,139	0,111	
20	„ in der I., II. u. III. Peride	13,055	13,395	— 0,340	

ausgewandert ist, zum Theil aber in den Cotyledonen selbst in Stärke umgesetzt worden ist, ergeben sich geringe Unterschiede. Es erklärt sich dadurch die in der ersten Periode bemerkbare Zunahme der absoluten Menge freier Säure in den Cotyledonen von 0,260 gr auf 0,752 gr, welche dann in den folgenden Perioden, ebenso wie bei *Helianthus*, langsam abnimmt. Der relative Säuregehalt des Fettes in den Cotyledonen erfährt demgemäss in der ersten Periode eine schnelle und später nur eine langsame Steigerung. Der Säuregehalt des wandernden Fettes liegt zwischen 5,98 % und 16,19 %. Da auch hier der Spaltung des Neutralfettes die Verarbeitung der freien Säuren unmittelbar folgt, so nimmt der Gehalt des in den ganzen Keimlingen vorhandenen Fettes an freier Säure nur sehr langsam zu. Nach der dritten Periode, als das Epicotyl schon die ersten Blätter entfaltete, und von dem in den Samen vorhandenen Reserve-Oel schon 55,40 % verbraucht waren, war der Gehalt des übriggebliebenen Fettes an freier Säure nur von 1,13 auf 6,50 % gestiegen.

Die hier bei *Helianthus* und *Arachis* geschilderten Verhältnisse liegen in derselben Weise auch bei der Keimung anderer Samen vor. Es wurden zur Bestätigung noch weitere Untersuchungen mit *Cannabis sativa*, *Cucurbita Pepo* und *Ricinus communis* vorgenommen. Dieselben wurden jedoch in der Weise vereinfacht, dass die sehr umständliche und zeitraubende Trennung des Neutralfettes von der freien Säure unterlassen wurde, da sich aus den bisher mitgetheilten Ziffern ergiebt, dass die Berechnung nach der oben erwähnten Gleichung dieselben Resultate wie eine praktisch ausgeführte Trennung liefert. Zur Ermittelung der Hehner'schen Zahlen der Fette diente das, wie oben bei *Helianthus* und *Arachis* angegeben, von der Säure befreite Neutralfett der Samen. Wie aus den bisherigen Daten hervorgeht, verändert sich dieser Werth bei der Keimung nicht, da die erhaltenen Differenzen innerhalb der Fehlergrenzen liegen. — Es wurde also nach Neutralisation des Rohfettes mit alkoholischer Kalilauge sofort ein Ueberschuss dieser zur Verseifung des Neutralfettes zugefügt.

Cannabis sativa.

1000 Stück Samen gaben 16,545 gr Trockensubstanz mit 4,896 gr Rohfett. Neutralisirt durch 2,70 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0756 gr *KHO*. Neutralfett verseift durch 30,50 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,954 gr *KHO*. Die Hehner'sche Zahl betrug 92,25. Es berechnet sich daraus die freie Fettsäure zu

$$\frac{4{,}896 \,.\, \frac{0{,}0756 \,.\, 92{,}25}{100}}{0{,}954 + \frac{0{,}0756 \,.\, 92{,}25}{100}} = 0{,}370 \text{ gr} = 7{,}56\ \%.$$

Die Keimlinge wurden in einem Stadium untersucht, in welchem die Wurzel ausgebildet war und das Hypocotyl eine Länge von 20 mm besass. — 1000 Stück Keimlinge gaben 11,470 gr Trockensubstanz (ohne Samenschalen), wovon 8,235 gr auf die Cotyledonen, 3,235 gr auf Wurzel und Hypocotyl entfielen. — Das Parenchym von Wurzel und Hypocotyl enthielt nur Oel, während die Scheide reichlich Stärke führte.

Die Cotyledonen enthielten 2,067 gr Rohfett. Zur Neutralisation der freien Säure dienten 1,47 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,04116 gr *KHO*; zur Verseifung des Neutralfettes 12,60 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,3528 gr *KHO*. Die Summe von freier und gebundener Fettsäure betrug 1,922 gr. Die freie Säure berechnet sich zu 0,201 gr = 9,72 %.

Hypocotyl und Wurzel: Rohfett = 0,282 gr, davon 0,003 gr unverseifbar. Freie Säure neutralisirt durch 0,80 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0224 gr *KHO*. Neutralfett verseift durch 1,15 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge 0,0322 gr *KHO*. Freie und gebundene Säure = 0,265 gr. Freie Säure berechnet = 0,109 gr = 39,07 %.

Eine Zusammenstellung ergiebt die folgende Tabelle, aus welcher sich die gleichen Schlüsse wie bei *Helianthus* und *Arachis* ableiten lassen.

No.	Pflanzentheil.	Roh-Fett.	Neutral-Fett.	Freie Säure.	Säuregehalt d. Rohfetts %
1	Samen	4,896	4,526	0,370	7,56
2	Cotyledonen	2,067	1,866	0,201	9,72
3	Hypocotyl und Wurzel	0,279	0,170	0,109	39,07
4	Summa	2,346	2,036	0,310	13,21
5	Verbraucht	2,550	2,490	0,060	
6	Aus den Cotyledonen ausgewandert	2,829	2,660	0,169	

Cucurbita Pepo.

100 Samen mit 46,50 gr Trockengewicht gaben 17,750 gr Rohfett. Freie Säure neutralisirt durch 1,80 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0504 gr *KHO*. Neutralfett verseift durch 119,15 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 3,3362 gr *KHO*. Die Hehner'sche Zahl war im Mittel mehrerer Bestimmungen 92,70. Freie Säure berechnet = 0,245 gr = 1,35 % des Rohfettes. Die gesammte Fettsäure betrug 16,488 gr.

Die Keimlinge kamen zu einer Zeit zur Untersuchung, als die Wurzel ausgebildet und reichlich mit Nebenwurzeln besetzt war, und das Hypocotyl eine Länge von 10 mm besass. Beide enthielten im Parenchym nur Spuren von Oel, das Hypocotyl dagegen sehr reichlich Stärke. In den Cotyledonen war die Stärkebildung fast bis zur Hälfte vorgeschritten, erstreckte sich jedoch an der Peripherie der Cotyledonen noch eine kurze Strecke in die obere Hälfte hinein. Die Cotyledonen gelangten als obere und untere Hälfte getrennt zur Untersuchung. — 100 Keimlinge ohne Samenschalen gaben 34,81 gr Trockensubstanz, davon wogen Wurzel und Hypocotyl 5,21 gr, die untere Hälfte der Cotyledonen 13,80 gr und die obere Hälfte derselben 15,80 gr.

Cotyledonen, obere Hälfte: Rohfett 5,147 gr. Freie Säure neutralisirt durch 0,65 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0182 gr *KHO*. Neutralfett verseift durch 34,40 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,9632 gr *KHO*. Freie Säure berechnet = 0,08823 gr = 1,71 %. Freie und gebundene Säure = 4,765 gr.

Cotyledonen, untere Hälfte: Rohfett 4,630 gr. Freie Säure neutralisirt durch 1,05 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0294 gr *KHO*. Neutralfett verseift durch 30,50 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,854 gr *KHO*. Freie Säure berechnet = 0,1305 gr = 2,82 %. Freie und gebundene Säure betrug 4,282 gr.

Wurzel und Hypocotyl: Rohfett 0,086 gr. Freie Säure neutralisirt durch 0,50 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,014 gr *KHO*. Neutralfett verseift durch 0,10 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0028 gr *KHO*. Freie Säure berechnet = 0,0705 gr = 82,00 % des Rohfettes. Freie und gebundene Säure = 0,084 gr.

Diese, in der folgenden Tabelle übersichtlich zusammengestellten Resultate bestätigen die oben gezogenen Schlussfolgerungen, dass in den Cotyledonen nur da die Spaltung des Neutralfettes stattfindet, wo ihr die weitere Verarbeitung der freien Säure auf dem Fusse folgt. Demzufolge hat das Oel in der oberen Hälfte der Cotyledonen nur eine sehr geringe Zunahme des Säure-Gehaltes erfahren, welche auf die erwähnte peripherische Umsetzungszone beschränkt sein dürfte. Der hohe Gehalt des Fettes der wachsenden Organe an freier Säure, welcher den, bei den anderen Beispielen gefundenen bedeutend übersteigt, zeigt, dass bei *Cucurbita Pepo* keine oder nur sehr geringe Oelwanderung stattfinden kann. Es findet daher in den wachsenden Organen keine Zufuhr von Neutralfett, sondern nur ein Verbrauch des in der Embryoanlage schon in den Zellen vorhandenen Fettes statt.

No.	Pflanzentheil.	Roh-Fett gr.	Neutral-Fett gr.	Freie Säure gr.	Säure-gehalt d. Rohfetts %.
1	Samen	17,750	17,505	0,245	1,35
2	Cotyledonen, obere Hälfte	5,147	5,059	0,088	1,71
3	„ untere „	4,630	4,499	0,131	2,82
4	Hypocotyl und Wurzel	0,086	0,015	0,071	82,00
5	Summa	9,863	9,573	0,290	2,94
6	Verbrauch	7,887	7,932	— 0,045	

Ricinus communis.

Die Keimlinge wurden zu einer Zeit untersucht, als die Wurzel ihre Streckung beendet hatte und das Hypocotyl 15 mm lang war. Die Cotyledonen steckten noch ganz im Endosperm, das an seiner Basis reichlich Stärke und Zucker enthielt. Die Cotyledonen waren stark mit Stärke erfüllt, führten aber keinen Zucker. — Von 100 Keimlingen wogen: Endosperm 99,43 gr, trocken 19,57 gr mit 2,943 gr Fett. Cotyledonen 10,88 gr, trocken 2,88 gr mit 0,623 gr Fett. Hypocotyl und Wurzel 59,43 gr, trocken 7,14 gr mit 0,217 gr Fett.

Das Fett des Endosperms erforderte zur Neutralisation 1,75 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0490 gr *KHO*, zur Verseifung des Neutralfettes 17,40 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,4872 gr *KHO*. Die Hehner'sche Zahl betrug im Mittel

mehrerer Bestimmungen 94,80 gr. Daraus berechnet sich die freie Säure im Fett des Endosperms zu 0,2566 gr = 8,72 % des Rohfettes.

Im Fett der Cotyledonen dienten zur Neutralisation der freien Säure 1,30 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0364 gr *KHO*, zur Verseifung des Neutralfettes 2,80 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0784 gr *KHO*, so dass sich die freie Säure demnach zu 0.1904 gr = 30,56 % des Rohfettes berechnet.

Im Fett der Wurzel und des Hypocotyl dienten zur Neutralisation der freien Säure 1,30 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0364 gr *KHO*, zur Verseifung des Neutralfettes 0,15 ccm $^1/_2$ *n*-Kalilauge = 0,0042 gr *KHO*. Die freie Säure berechnet sich daraus zu 0,19345 gr = 89,15 % des Rohfettes.

Das Oel, welches von den Cotyledonen aus dem Endosperm aufgesogen worden war, hatte also im höchsten Falle 30,56 % freie Säure; doch dürfte der wirkliche Säure-Gehalt wesentlich tiefer liegen, da in den ganzen Cotyledonen eine sehr lebhafte Umsetzung des aufgenommenen Oeles in Stärke stattfindet. Der Säuregehalt des aus dem Endosperm gewonnenen Oeles kann hier auch nicht als Minimalwerth gelten, da derselbe durch die an der Basis des Endosperms stattfindende Stärke- und Zuckerbildung jedenfalls merklich erhöht wird.

Bei der mikroskopischen Betrachtung des Keimungsprocesses hatten wir gesehen, dass die Entwickelung der verschiedenen Keimlinge Verschiedenheiten aufweist, welche eine gewisse Beziehung zur Zusammensetzung der Reserve-Oele erkennen lassen. Zeigt es sich aber, dass ein Bestandtheil eines Fettes leichter zu verarbeiten ist, oder dass z. B. ein hoher Gehalt eines Oeles an Leinölsäure dasselbe zur Oelwanderung disponiert, so ist damit auch die Möglichkeit einer ungleichmässigen Verarbeitung der einzelnen Bestandtheile dieses Fettes gegeben. Durch eine ungleichmässige Verarbeitung der einzelnen Bestandtheile eines Fettes oder durch die stärkere Wanderung einer Säure müssen aber Verschiebungen in der Zusammensetzung der Oele, beziehungsweise eine Anhäufung der weniger leicht zu verarbeitenden Antheile desselben stattfinden. Eine derartige Veränderung der Zusammensetzung der Fette, welche durch ein wechselndes Verhältniss der in ihnen vorhandenen Säuren hervorgerufen ist, wird sich nun durch eine Aenderung ihrer Jodzahl zu erkennen geben. — Ich benutzte daher die bei den bisherigen Versuchen über den Säuregehalt der Fette gewonnenen freien Fettsäuren zur Bestimmung ihrer Jodzahl. Letzteres geschah nach der v. Hübl'schen Methode, indem darauf Bedacht genommen wurde, die Bestimmung sofort nach der Abscheidung auszuführen, da die freien Säuren sich an der Luft schneller oxydiren als ihre Glyceride und eine Oxydation der Säuren ihr Aufnahmevermögen für Jod herabsetzt. — Die erhaltenen Werthe ergeben sich aus folgenden Tabellen. Die in der letzten Spalte derselben aufgeführten

Ziffern sind die Jodzahlen der Säuren, also die Menge Jod, welche von 100 Theilen Fettsäure addirt wird.

Helianthus annuus.

Pflanzentheil.		Zur Bestimmung verwandte Fettsäure gr.	1/10 Normal-Jodlösung entfärbt ccm.	Jodzahl der gebundenen Säure.	Jodzahl der freien Säure.
Samen: freie Säure		0,184	16,90		116,6
„ gebundene Säure		0,150	16,60	140,6	
Periode I.	Cotyledonen: freie S.	0,173	14,70		107,9
	„ gebundene S.	0,220	23,80	137,4	
	Hypocotyl: freie S.	0,087	6,40		93,4
	„ gebundene S.	0,189	17,90	120,3	
	Wurzel: freie S.	0,054	2,85		67,0
Periode II.	Codyledonen: freie S.	0,148	9,20		78,9
	„ gebundene S.	0,268	28,50	135,1	
	Hypocotyl u. Wurzel: freie S.	0,166	4,90		37,5
	„ gebundene S.	0,184	15,85	109,4	

Arachis hypogaea.

Pflanzentheile.		Zur Bestimmung verwandte Säure gr.	Entfärbte 1/10 Normal-Jodlösung ccm.	Jodzahl der gebundenen Säure.	Jodzahl der freien Säure.
Samen: freie Säure		0,260	19,00		92,8
„ gebundene Säure		0,351	26,65	96,4	
Periode I.	Cotyledonen: freie S.	0,752	53,40		90,2
	„ gebundene S.	0,634	45,50	91,1	
	Hypocotyl u. Wurzel: freie S.	0,056	3,90		89,6
	„ gebundene S.	0,275	19,50	90,1	
Periode II.	Cotyledonen: freie S.	0,711	47,60		85,2
	„ gebundene S.	0,609	42,90	89,5	
	Hypocotyl u. Wurzel: freie S.	0,091	6,00		83,7
	„ gebundene S.	0,249	16,50	84,1	
Periode III.	Cotyledonen: freie S.	0,600	37,85		80,1
	„ gebundene S.	0,452	31,15	87,5	
	Hypocotyl u. Wurzel: freie S.	0,070	4,40		79,8
	„ gebundene S.	0,182	11,85	82,6	

Canuabis sativa.

Pflanzentheil.	Zur Bestimmnng verwandte Säure gr.	Entfärbte $^1/_{10}$ Normal-Jodlösung ccm.	Jod-Zahl.
Samen	0,282	34,50	155,4
Cotyledonen	0,232	28,00	153,3
Wurzel und Hypocotyl	0,114	9,00	100,3

Cucurbita Pepo.

Pflanzentheil.	Zur Bestimmung verwandte Säure gr.	Entfärbte $^1/_{10}$ Normal-Jodlösung ccm.	Jod-Zahl.
Samen	0,521	53,65	130,8
Cotyledonen, obere Hälfte	0,170	17,50	130,7
„ untere „	0,214	20,90	124,0
Hypocotyl und Wurzel	0,084	6,00	90,7

Diese Bestimmungen ergeben übereinstimmend, dass sich das Aufnahmevermögen der Fettsäuren für Jod bei der Keimung der Samen langsam aber stetig vermindert, und zwar in der Weise, dass es bei den freien in schnellerem Tempo abnimmt, als bei den gebundenen Säuren des Neutralfettes. Würden nun keine anderen Verhältnisse mitsprechen, so würde sich aus dieser Abnahme der Jodzahlen der Fette eine verschiedene Verarbeitung der in dem Fette enthaltenen Säuren in dem Sinne ergeben, dass die Säuren der Fettsäure-Reihe, welche kein Jod addiren, weniger schnell verarbeitet werden und daher eine Anhäufung erfahren. Letztere würde aber doch nur sehr gering sein, da die niedrigsten Jodzahlen nur denjenigen Fettsäuren zukommen, welche nur in geringer Menge vorhanden sind, während die Säuren der grösseren Fettmengen nur eine schwache Verminderung des Aufnahmevermögens zeigen. Führen wir z. B. bei *Heliarthus* die Rechnung aus, indem wir von der Annahme ausgehen, dass die isolirten Fettsäuren in ihrem Verhältnisse wechselnde Gemenge von Leinölsäure und Palmitinsäure seien und keine anderen Säuren enthielten. In Wirklichkeit wird das ja nicht zutreffen; doch, wie immer die Säuregemische zusammengesetzt sein mögen, bleibt das Resultat der Berechnung im Princip dasselbe. Unter Berücksichtigung der Jodzahl

für Leinölsäure, welche 201,59 beträgt, berechnen sich für die erhaltenen Säuren die in folgender Tabelle zusammengestellten Zusammensetzungen.

	Pflanzentheil.	Gesammt-Säure.	Leinöl-Säure.	Palmitin-Säure.
	Samen: freie Säure	0,184	0,106	0,078
	„ gebundene S.	10,730	7,468	3,262
	„ Summa	10,917	7,574	3,340
Periode I.	Cotyledonen: freie Säure	0,173	0,093	0,080
	„ gebundene S.	6,046	4,121	1,925
	„ Summa	6,219	4,214	2,005
	Hypocotyl: freie Säure	0,087	0,040	0,047
	„ gebundene S.	0,189	0,113	0,076
	„ Summa	0,276	0,153	0,123
	Wurzel: freie Säure	0,054	0,018	0,036
	Keimlinge d. I. Period.: Summa	6,549	4,385	2,164
Periode II.	Cotyledonen: freie Säure	0,148	0,048	0,100
	„ gebundene S.	1,670	1,114	0,556
	„ Summa	1,818	1,162	0,656
	Hypocotyl u. Wurzel: freie S.	0,166	0,031	0,135
	„ gebundene S.	0,184	0,100	0,084
	„ Summa	0,350	0,131	0,219
	Keimlinge d. II. Period.: Summa	2,168	1,293	0,875
	Verbraucht in der I. Periode	4,365	3,189	1,176
	„ in der II. Periode	4,381	3,105	1,276
	„ in der I. und II. Periode	8,746	6,281	2,465
	Aus den Cotyledonen ausgewandert in der I. Periode	4,695	3,360	1,335
	„ in der II. Periode	4,401	3,052	1,349
	„ in d. I. u. II. Periode	9,096	6,412	2,684

Aus dieser Berechnung geht nun hervor, dass im angenommenen Falle während der Keimung verbraucht worden wären: In der I. Periode 3,189 gr = 42,00 % der in den Samen vorhanden gewesenen Leinölsäure säure und 1,176 = 35,21 % Palmitinsäure; in der II. Periode 3,105 gr = 41,00 % Leinölsäure und 1,276 gr = 38,21 % Palmitinsäure; also im Ganzen 83,10 % der in den Samen vorhandenen Leinölsäure und 73,42 % der Palmitinsäure. Die Auswanderung aus den Cotyledonen erstreckte sich in der I. Periode auf 3,360 gr = 44,36 % Leinölsäure und 1,335 gr = 40,00 % Palmitinsäure, in der II. Periode auf 3,052 gr = 40,30 % Leinölsäure und 1,349 gr = 40,40 % Palmitinsäure; also im Ganzen auf 84,66 % der vorhandenen Leinölsäure und 80,40 % der Palmitinsäure. — Man sieht also,

dass die leichtere Verarbeitung beziehungsweise schnellere Wanderung der Leinölsäure nur eine ausserordentlich geringe wäre, während bei anderen bekannten Fällen des electiven Stoffwechsels ganz beträchtliche Anhäufungen der weniger leicht verarbeitbaren Stoffe stattfinden.

Diese geringe, zu Gunsten der Leinölsäure bestehende Unterschied wird nun aber durch folgende Erwägungen auf Null reduzirt. Der Fähigkeit der Fettsäuren, Sauerstoff zu absorbiren wurde schon vorher gedacht. Schon Hellriegel[1]) wies darauf hin, dass die Keimlinge ölhaltiger Samen Sauerstoff absorbiren, und daher in der ersten Zeit der Keimung sogar eine Zunahme an Trockensubstanz erfahren. Müntz[2]) wies dann weiter nach, dass es speciell das Fett ist, welches die Aufnahme von Sauerstoff bedingt.

Von den verschiedenen Fettsäuren sind die festen Fettsäuren der Reihe $C_n H_{2n} O_2$ nicht zur Sauerstoffaufnahme befähigt. Bei Behandlung mit oxydirenden Mitteln erfahren sie weitergehende Spaltungen in verschiedene Körper, unter denen z. B. Oxalsäure, Essigsäure und andere bekannt sind. Dieselben sind alle in Wasser löslich und meist in Aether unlöslich so dass sie also keine Bestandtheile der auf unsere Weise aus den Keimlingen gewonnenen Fettsäuren bilden können. Dagegen nehmen die Säuren der Oelsäure-Reihe, leichter aber noch die Leinölsäure Sauerstoff auf, indem letzterer an die Stelle der ungesättigten Bindungen tritt. und dadurch die ungesättigten Bindungen in gesättigte übergeführt werden. Dies ist sowohl bei den Triglyceriden, wie bei den freien Säuren der Fall, geht jedoch bei letzteren bekanntermaassen viel schneller vor sich. In dem Maasse als nun die ungesättigten Bindungen der Fettsäuren durch die Aufnahme von Sauerstoff in gesättigte übergeführt werden, muss natürlich das Aufnahmevermögen für Jod sinken, da die Addition desselben ja ebenfalls an der Stelle der ungesättigten Bindungen stattfindet. Einer Aufnahme von 2 Atomen Jod entspricht aber die von 1 Atom Sauerstoff, so dass je 127 Theilen Jod, welche eine Säure addiren kann, 8 Theile Sauerstoff entsprechen. Berechnen wir dem entsprechend aus den Jodzahlen die aufgenommene Menge Sauerstoff, so kommen wir zu den in den folgenden Tabellen aufgestellten Werthen. Als normal können wir dabei wohl diejenigen Jodzahlen annehmen, welche die Säure der, aus den Samen gewonnenen Neutralfette ergaben. Dieselben betrugen bei *Helianthus* 140,6 bei *Arachis* 96,4, bei *Cannabis* 155,4, und bei *Cucurbita* 130,8. Die ihnen entsprechenden Mengen Jod, welche die Fettsäuren aufgenommen haben würden, wenn sie keine Veränderung bei der Keimung erfahren hätten, finden sich in der zweiten Spalte, während die dritte Spalte die wirklich addirte Jodmenge ergiebt.

---

1) Hellriegel, Zur Keimungsgeschichte ölgebender Samen. Journal für prakt. Chemie 1855. LXIV. pg. 94 ff.

2) Müntz, Sur la germination des graines oléagineuses. Annales de chimie et de physique 1871. sér. IV. t. XXII. pg. 372 ff.

Helianthus annuus.

	Pflanzentheil.	Säure gr.	Soll Jod addieren: gr.	Addiert Jod: gr.
Periode I.	Cotyledonen: freie Säure	0,173	0,243	0,187
	„ gebundene S.	6,046	8,501	8,307
	Hypocotyl: freie Säure	0,087	0,122	0,081
	„ gebundene Säure	0,189	0,266	0,227
	Wurzel: freie Säure	0,054	0,076	0,037
	Keimlinge: Summa	6,549	9,208	8,839
Periode II.	Cotyledonen: freie Säure	0,148	0,208	0,117
	„ gebundene S.	1,670	2,348	2,256
	Hypocotyl u. Wurzel: freie S.	0,166	0,233	0,062
	„ gebundeneSäure	0,184	0,259	0,201
	Keimlinge: Summa	2,168	3,048	2,636

Nach der I. Keimungsperiode addirten die vorhandenen Fettsäuren 0,369 gr Jod weniger, als sie gethan haben würden wenn sie durch den Keimungsprocess keine Veränderung erlitten hätten, Nach der II. Periode betrug diese Jodmenge 0,412 gr. Denselben entspricht eine Sauerstoffabsorption in der I. Periode von 0,02325 gr = 0,340% des Rohfettes in der II. Periode von 0,0291 gr = 1,286% des Rohfettes.

Cannabis satira.

Pflanzentheil.	Säure gr.	Soll Jod addieren: gr.	Addiert Jod: gr.
Cotyledonen	1,922	2,987	2,946
Hypocotyl und Wurzel	0,265	0,412	0,266
Keimlinge: Summa	2,187	3,399	3,212

Bei *Cannabis sativa* betrug demnach die Differenz der Jodaufnahme 0,187 gr, welche 0,0318 gr Sauerstoff entsprechen. Die Sauerstoffaufnahme betrug demnach 0,503% des Rohfettes.

Cucurbita Pepo.

Pflanzentheil.	Säure gr.	Soll Jod addieren: gr.	Addiert Jod: gr.
Cotyledonen: obere Hälfte	4,765	6,233	6,228
„ untere Hälfte	4,282	5,601	5,310
Hypocotyl und Wurzel	0,084	0,110	0,076
Keimlinge: Summa	9,131	11,944	11,614

Arachis hypogaea.

	Pflanzentheil.	Säure gr.	Soll Jod addieren: gr.	Addiert Jod: gr.
Periode I.	Cotyledonen: freie Säure	0,752	0,725	0,678
	„ gebundene S.	16,783	16,179	15,289
	Hypocotyl u. Wurzel: freie S.	0,056	0,054	0,050
	„ gebundene S.	0,275	0,265	0,248
	Keimlinge: Summa	17,866	17,223	16,265
Periode II.	Cotyledonen: freie Säure	0,711	0,685	0,606
	„ gebundene S.	12,910	12,445	11,546
	Hypocotyl u. Wurzel: freie S.	0,091	0,088	0,076
	„ gebundene S.	0,249	0,240	0,209
	Keimlinge: Summa	13,961	13,458	12,437
Periode III.	Cotyledonen: freie Säure	0,600	0,578	0,481
	„ gebundene S.	8,970	8,647	7,849
	Hypocotyl u. Wurzel: freie S.	0,070	0,067	0,056
	„ gebundene S.	0,182	0,175	0,150
	Keimlinge: Summa	9,822	9,467	8,536

Das Fett der Keimlinge von *Cucurbita Pepo* addirte 0,330 gr Jod weniger, als dem Fett der Samen entspricht, woraus sich eine Sauerstoff-Absorption von 0,0208 = 0,211% des Rohfettes berechnet. Bei *Arachis hypogaea* betrug die Differenz in der Jodaufnahme in der I. Periode 0,958 gr, in der II. Periode 1,021 gr und in der III. Periode 0,931 gr. Denselben entspricht eine Sauerstoffabsorption von 0,0603 gr = 0,322% in der I. Periode, von 0,0643 gr = 0,439% in der II. Periode und von 0,0586 gr = 0,569% in der III. Periode.

Ueber die Absorption von Sauerstoff durch die Fette beim Keimungsprocess bei Raps und Mohn liegen Angaben von Müntz vor. Aus seinen Elementaranalysen der Fette verschiedener Keimungsstadien lassen sich folgende Werthe für die Sauerstoffaufnahme berechnen:

	Raps	Mohn
Keimlinge 3 Tage alt	2,81%	—
„ 6 „ „	3,26%	1,44%
„ 10 „ „	3,86%	2,16%.

Dermer (l. c.) bestimmte in Keimlingen von Hanf, welche fast die gleiche Entwickelung wie die unseren zeigten, die Sauerstoffzunahme zu 0,23% der Trockensubstanz. Da diese Keimlinge 17,74% Fett enthielten, so würde die Sauerstoffaufnahme, wenn dieselbe nur von diesem ausgegangen wäre, 1,30% des Fettes betragen. Thatsächlich liegt der Werth aber bedeutend tiefer, da nur ein Theil des Sauerstoffs von dem Fett auf-

genommen worden war, die grössere Hälfte dagegen zur Bildung von Stärke aus dem Fett gedient hatte, und diese gleichfalls in der Bestimmung mit inbegriffen war. — Liegen nun auch die von Müntz bestimmten Werthe höher, als sie sich aus den Jodzahlen berechnen lassen, so glaube ich doch, dass die Differenzen der Jodzahlen lediglich auf die Sauerstoffabsorption zurückzuführen sind, zumal es ja nicht ausgeschlossen ist, dass die Fette auch noch andere Oxydationsproducte enthalten, welche sauerstoffreicher sind als diejenigen, welche durch Addition von Sauerstoff an der Stelle der ungesättigten Bindungen der Säuren entstehen. Immerhin sind die Unterschiede in den verschiedenen Bestimmungsmethoden aber nicht gross genug, um aus denselben umgekehrt auf eine schnellere Wanderung und Verarbeitung der gesättigten Säuren im Vergleich zu den ungesättigten schliessen zu können; denn solches würde in der That der Fall sein, wenn die Sauerstoffaufnahme beträchtlich, die Abnahme der Jodzahlen aber nur eine geringe wäre.

Zur Controlle vorstehender Bestimmungen benutzte ich einen Theil der bei *Arachis hypogaea* gewonnenen Fettsäuren zur Bestimmung ihrer Schmelzpunkte, und zwar bestimmte ich letztere sowohl bei den freien als auch bei den gebundenen Säuren in allen Entwickelungsstadien der Keimlinge. Die Säuren des *Arachis*-Oeles sind der Hauptsache nach Gemenge von Palmitinsäure, Arachinsäure und Hypogäasäure. Da nun die Palmitinsäure bei 62°, die Arachinsäure bei 72° und die Hypogäasäure bei 33° schmilzt, so müssen sich Aenderungen im Verhältniss eines Gemenges derselben durch Steigen oder Fallen seines Schmelzpunktes zu erkennen geben. Dies fand indessen nicht statt. Ich bestimmte den Schmelzpunkt der Fettsäuren im Oel des Samens zu 33°. Die freien wie gebundenen Säuren aus den Keimlingen der verschiedenen Entwickelungsstadien zeigten sämmtlich unregelmässig schwankende Schmelzpunkte zwischen 32 und 35°, ohne dass sich eine Beziehung zu den Jodzahlen hätte erkennen lassen.

Ich glaube daher, zu dem Resultat kommen zu müssen, dass die Schwankungen der Jodzahlen nur durch die Aufnahme von Sauerstoff hervorgerufen werden, und dass daher auch keine bevorzugte Wanderung oder Verarbeitung des einen oder anderen Bestandtheiles der Fette stattfindet. Es können daher Aenderungen in der Zusammensetzung der in den verschiedenen Organen der Keimlinge befindlichen Fette immer nur geringfügiger und untergeordneter Natur sein.

Zusammenfassung der Resultate.

Während trockene Cellulosemembranen dem Fett leicht einen Imbibitions-Durchgang gestatten, sind dagegen künstliche Cellulosehäute, wie Pergamentpapier, im wasserdurchtränkten Zustande, für Fette imperme-

bael, und zwar in gleicher Weise für Neutralfette, wie für freie Säuren. Durch die Cellulosehäute lebender Parenchymzellen dringen hingegen Fette mit Leichtigkeit in die Zellen ein. Bedingung dafür oder jedenfalls solche begünstigend, ist ein geringer Gehalt der Fette an freien Säuren. Demgemäss werden Neutralfette nicht von aussen in lebende Zellen aufgenommen, das Eindringen erfolgt aber um so leichter und schneller, je grösser der Gehalt des Fettes an freier Säure ist. Die Eigenschaft der Permeabilität für säurehaltige Fette kommt allen lebenden Cellulosemembranen zu. Dieselbe ist unabhängig von den Wirkungen des Plasmakörpers der Zellen. Letzterer beeinflusst dagegen die Aufnahme in der Weise, dass bei gleichem Säuregehalt die Schnelligkeit des Eindringens und die Quantität des von aussen in die lebenden Zellen aufgenommenen Fettes davon abhängt, wie schnell dasselbe, nach seiner Durchwanderung der Zellhaut, vom Plasmakörper aufgenommen wird. Die Cellulosemembranen der Parenchymzellen von Keimpflanzen, welche bei ihrer Entwickelung aus ölhaltigen Samen Oelwanderung zeigen, haben in Bezug auf die Permeabilität für Fette keine anderen Eigenschaften, wie alle Cellulosehäute.

Ebenso vermag das Plasma dieser Pflanzen seine fettspaltende Fähigkeit nicht in merkbarer Weise auf Fette auszudehnen, welche sich ausserhalb der Zellen befinden. Im Gegensatz dazu findet bei Pilzen, welche vorzüglich gedeihen, wenn ihnen Fette als einzige organische Nahrung geboten werden, eine sehr bedeutende Spaltung der Neutralfette ausserhalb der Pilzzellen statt. Ebenso vermögen letztere auch feste Fette als Nahrung in die Zellen aufzunehmen.

Alle Erscheinungen scheinen dafür zu sprechen, dass das Durchdringen der Fette durch lebende Cellulosehäute in der Weise vor sich geht, dass ein in der Zellhaut befindlicher Körper mit den freien Fettsäuren eine seifenartige Verbindung bildet. Diese durchtränkt einerseits die Cellulosemembran und erhöht dadurch die Capillarattraktion derselben für Fette; andererseits emulgiert sie auch einen Teil des Fettes und vermittelt auf diese Weise den Durchgang desselben. Dabei werden in letzterem gelöste Farbstoffe aber von der Zellhaut zurückgehalten.

Für die Oelwanderung, welche bei der Keimung ölhaltiger Samen stattfindet, ist damit auch die Möglichkeit eines direkten Ueberganges der Fette von Zelle zu Zelle gegeben, da die Plasmahaut für Fette permeabel ist, Fetttröpfchen zwischen Plasmakörper und Zellhaut angetroffen werden, und das wandernde Fett einen genügenden Säuregehalt besitzt, um die Zellhaut durchdringen zu können. Letzterer beträgt im Durchschnitt zwischen 10 und 30%.

Bei der Keimung ölhaltiger Samen findet nicht, wie dies aus bisherigen Untersuchungen hervorzugehen schien, ein Auftreten reichlicher Mengen freier Fettsäuren statt. Dieselben unterliegen vielmehr alsbald nach ihrer Abspaltung der weiteren Verarbeitung, so dass der Zeitpunkt,

wo das in den Keimlingen befindliche Fett nur aus freier Säure besteht, in ein sehr spätes Entwickelungsstadium fällt, in dem überhaupt nur noch ein sehr geringer Rest des Reserve-Oeles übrig geblieben ist. Ein ähnliches Verhalten findet auch bei der Ernährung von Schimmelpilzen mit Fetten statt.

Bei den bis jetzt untersuchten Pflanzen scheinen gewisse Beziehungen zwischen der Zusammensetzung ihrer Reserve-Oele und der Art der Verarbeitung letzterer zu bestehen, besonders scheint das Vorkommen einiger Fettsäuren die Oelwanderung zu begünstigen. Eine schnellere Verarbeitung oder Wanderung einzelner Bestandtheile eines Fettes, beziehungsweise eine Anhäufung anderer lässt sich nicht nachweisen; vielmehr hat das zu irgend einer Zeit in irgend einem Theile der Keimpflanze befindliche Fett, abgesehen vom Säuregehalte, annähernd dieselbe Zusammensetzung, wie zur Zeit seiner Lagerung in den Reservestoff-Behältern.

Vorstehende Arbeit wurde im botanischen Institut der Universität Leipzig auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. Dr. W. Pfeffer begonnen. Ein Teil der chemischen Arbeiten gelangte im chemisch-hygienischen Untersuchungs-Laboratorium beim Kgl. med.-chirurg.-Friedrich-Wilhelms-Institut in Berlin zur Ausführung.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geh.-Rat Pr. Dr. W. Pfeffer in Leipzig sage ich an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank für die Anleitung und Beratung, welche mir derselbe jederzeit in liebenswürdigster Weise hat zu Teil werden lassen.